Aus dem Institut für Physiologische Chemie II
der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. W. Staib

KONZENTRATIONSABHÄNGIGE LACTAT-UND PYRUVATUTILISATION DER SKELETTMUSKULATUR

Untersuchungen zum Einfluß von Glucocorticoiden
und Insulin am isoliert perfundierten Hinterkörper
adrenalektomierter Ratten

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

GABRIELA MAGRIAN

1981

Aus dem Institut für Physiologische Chemie II
der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. W. Staib

KONZENTRATIONSABHÄNGIGE LACTAT-UND PYRUVATUTILISATION DER SKELETTMUSKULATUR

Untersuchungen zum Einfluß von Glucocorticoiden
und Insulin am isoliert perfundierten Hinterkörper
adrenalektomierter Ratten

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

GABRIELA MAGRIAN

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez. Prof. Dr. Straßburg

Referent
gez. Prof. Dr. Staib

Korreferent
gez. Prof. Dr. Berger

Gesamtherstellung: **aku** - Fotodruck GmbH, 8600 Bamberg

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	E I N L E I T U N G	1
2.	V E R S U C H S P L A N U N G	4
3.	M A T E R I A L U N D M E T H O D E N	
3.1.	VERSUCHSTIERE/VORBEHANDLUNG	6
3.2.	PRÄPARATION	6
3.3	REAGENZIEN	8
3.4.	PERFUSIONSMEDIUM	9
3.5.	PERFUSIONSSYSTEM	10
3.6.	BESTIMMUNG VON KONTROLLPARAMETERN UND SUBSTRATEN	12
3.7.	MATHEMATISCHE AUSWERTUNG DER VERSUCHE	14
4.	E R G E B N I S S E	15
4.1.	PERFUSIONSVERLAUF (Kontrollparameter)	15
4.2.	VERSUCHSRUPPE I: exogene Lactatbelastung	16
4.2.1.	Glucose	16
4.2.2.	Lactat	17
4.2.3.	Pyruvat	18
4.2.4.	Lactat/Pyruvat-Quotient	19
4.2.5.	Alanin	20
4.2.6.	Glutamin/Glutamat	21
4.2.7.	Glykogen	22
4.2.8.	Metabolite im Muskelgewebe	23
4.2.9.	Sauerstoffverbrauch	24
4.3.	VERSUCHSGRUPPE II: Insulineinfluß auf den Muskelstoffwechsel bei Zuständen mit erhöhter Lactatkonzentration	25
4.3.1.	Glucose	25

4.3.2.	Lactat	26
4.3.3.	Pyruvat	27
4.3.4.	Lactat/Pyruvat-Quotient	28
4.3.5.	Alanin	29
4.3.6.	Glutamin/Glutamat	30
4.3.7.	Glykogen	31
4.3.8.	Metabolite im Muskelgewebe	32
4.3.9.	Sauerstoffverbrauch	33
4.4.	VERSUCHSGRUPPE III: exogene Pyruvat-belastung	34
4.4.1.	Glucose	34
4.4.2.	Lactat	35
4.4.3.	Pyruvat	36
4.4.4.	Lactat/Pyruvat-Quotient	37
4.4.5.	Alanin	38
4.4.6.	Glutamin/Glutamat	39
4.4.7.	Glykogen	40
4.4.8.	Metabolite im Muskelgewebe	41
4.5.	ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	42
5.	D I S K U S S I O N	45
5.1.	LACTATEINFLUß AUF DEN MUSKELSTOFFWECHSEL	45
5.1.1.	Schicksal des aufgenommenen Lactats	46
5.1.1.1.	Intrazelluläre Akkumulation	46
5.1.1.2.	Pyruvatbildung aus Lactat	47
5.1.1.3.	Bedeutung des Oxidationsweges für die Lactateliminierung	48
5.1.1.4.	Stimulation der Alaninbildung durch Lactat	50
5.1.1.5.	Glykogensynthese aus Lactat	53
5.2.	GLUCOCORTICOIDWIRKUNGEN AUF DEN SKELETT-MUSKELSTOFFWECHSEL UNTER LACTATBELASTUNG	57
5.2.1.	Einfluß auf Lactat-, Glucose- und Pyruvatutilisation	57

5.2.2.	Einfluß auf den Aminosäurenstoffwechsel	60
5.2.2.1.	Alanin	61
5.2.2.2.	Glutamin	62
5.2.2.3.	Glutamat	62
5.2.3.	Einfluß auf die Glykogenbildung	63
5.3.	INSULINWIRKUNGEN AUF DEN MUSKELSTOFF-WECHSEL BEI ZUSTÄNDEN MIT ERHÖHTER LACTATKONZENTRATION	64
5.3.1.	Einfluß auf den Kohlenhydratstoffwechsel	64
5.3.2.	Einfluß auf den Aminosäurenstoffwechsel	66
5.4.	EINFLUß VON GLUCOCORTICOIDEN AUF DIE INSULINWIRKUNG	68
5.5.	PYRUVATEINFLUß AUF DEN MUSKELSTOFFWECHSEL	71
6.	Z U S A M M E N F A S S U N G	74
7.	D A N K S A G U N G	76
8.	L I T E R A T U R	77

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538105_0006

1. EINLEITUNG

Die Skelettmuskulatur ist mit etwa 40 % der Körpermasse das größte Stoffwechselorgan des Organismus. Durch den erheblich wechselnden Energiebedarf, abhängig von der unterschiedlichen funktionellen Beanspruchung (Ruhe, Kontraktionsvorgang), ist der Muskelmetabolismus, wie frühere Untersuchungen des Institutes zeigten, auf Variabilität angelegt. Ein Kennzeichen ist die flexible, auch Hormon unabhängig eintretende Anpassung an die jeweils vorhandene extrazelluläre Substratverfügbarkeit. Änderungen der Glucose- und Fettsäurenkonzentration (74) oder auch des Angebotes von Lactat und Pyruvat (53,55) im Blut führen zu einer adaptativen Stoffwechselumstellung des Muskels.

Untersuchungen am Hinterkörper normaler Ratten (53,55) zeigten, daß Lactat und Pyruvat nicht nur von der Skelettmuskulatur freigesetzt, sondern mit steigender extrazellulärer Konzentration durch die ruhende Muskulatur aufgenommen werden können. Von den beiden Substraten ist besonders Lactat als Gluconeogenesepräkursor quantitativ von erheblicher Bedeutung. So kann im frühen Hungerzustand bis zu 60 % der hepatischen Glucoseneubildung als Lactatgluconeogenese erklärt werden (4,72,99). Änderungen der Bildungs- oder Utilisationsrate dieses Substrates durch das Muskelgewebe müssen sich daher, aufgrund der quantitativen Bedeutung dieses Organs, auf die Gluconeogeneserate und damit auf die Glucosehomöostase des Gesamtorganismus auswirken.

Im Rahmen der Untersuchungen zur Wirkung der Glucocorticoide interessierte uns daher, welche Bedeutung diese Hormone für die Lactat- und Pyruvatutilisation der Muskulatur haben; durch einen hemmenden Einfluß auf die Metabolisierung dieser Substrate durch den Muskel könnte über den Weg der Reutilisation im Glucose-Lactat-Zyklus die Lebergluconeogenese gesteigert werden.

Wie Untersuchungen der letzten Jahre ergaben, ist die Muskulatur als Zielorgan der Glucocorticoide anzusehen (1-4, 8,9). Die im M. gastrocnemius (77,78), M. extensor digitorum longus und M. soleus (86) nachgewiesenen Glucocorticoidrezeptoren lassen vermuten, daß der Muskelstoffwechsel einer direkten Kontrolle durch Nebennierenrindenhormone unterliegt. Ihre Wirkung auf zellulärer und subzellulärer Ebene (5,6,77,110) bleibt jedoch noch Gegenstand der Diskussion.

Die bisher bekannten Effekte dieser Hormone auf die Skelettmuskulatur betreffen den Glucosestoffwechsel und die Proteinsynthese. Glucocorticoide hemmen die Glucoseaufnahme und -oxidation (53,92,95,96) und die Proteinsynthese (12,13,43, 57,58) dieses Gewebes. Eine wesentliche Wirkung ist die gesteigerte Aminosäurenfreisetzung aus der Muskulatur, die in Übereinstimmung mit den Verhältnissen im Hungerzustand steht (45,88,106). Unter den Aminosäuren machen Alanin und Glutamin zusammen etwa 50 % der freigesetzten Gesamtmenge aus. Da dieser Prozentsatz nicht aus der Proteolyserate zu erklären ist (Muskelproteine enthalten etwa 8 % Alanin und 6 % Glutamin), wurde für beide Aminosäuren eine de novo-Synthese in der Muskulatur gefordert. Im Hinblick auf die Lebergluconeogenese ist dabei die Bildung des Alanins besonders interessant. In Analogie zum Glucose-Lactat-Zyklus (Cori-Zyklus) wurde von Felig (72) ein Glucose-Alanin-Zyklus postuliert. In diesem Zyklus wird ein Teil des aus Glucose entstehenden Pyruvats im Muskel transaminiert und das gebildete Alanin für die Glucosesynthese in der Leber wieder verwendet. Auf diesem Reutilisationsweg sollen nach Felig (72) bis zu 20 % der Glucoseneubildung erklärt werden können.

Das Ausmaß der Alaninsynthese durch die Muskulatur wird ursächlich mit Veränderungen der Pyruvat- (und Lactat) -verfügbarkeit in Verbindung gebracht (44,72,89). Ein zweiter Aspekt der vorliegenden Arbeit betrifft daher die Auswirkung von Änderungen im Lactat- und Pyruvat-

stoffwechsel auf die Alaninbildung und den Einfluß der Glucocorticoide auf diesen Prozeß.

An der Muskulatur ist Insulin als der wichtigste Gegenspieler der Glucocorticoide anzusehen (54). Im Gegensatz zu den Nebennierenrindenhormonen fördert Insulin den Glucoseeinstrom und die Energiegewinnung aus Glucose; die Glykogendeposition und die Proteinsynthese werden kurzfristig gesteigert (74,84,118,121,122). Nach Berger und Mitarbeitern (33,68,69) wird die Lactatoxidation unter Insulin erhöht; welche Bedeutung das Hormon für die Utilisation größerer Lactatmengen hat, ist jedoch weitgehend unbekannt. Diese Frage und die Darstellung der Wechselbeziehungen der Insulin- und Glucocorticoidwirkungen unter exogener Lactatbelastung stellten den abschließenden Themenkreis dieser Arbeit dar.

Die Untersuchungen wurden mit dem isoliert durchströmten Hinterkörper adrenalektomierter Ratten durchgeführt. Dieses Präparat hat sich als sehr geeignet für die in vitro-Untersuchung des Muskelstoffwechsels erwiesen (19,51,53-55,92). Es hat einen hohen Anteil an Muskelgewebe (etwa 40 % der Muskelmasse des Körpers werden perfundiert), stellt eine intakte Organeinheit dar und seine oxidative Stoffwechselaktivität beruht ganz überwiegend (zu etwa 85-90 %) auf den Muskelstoffwechsel.

2.

V E R S U C H S P L A N U N G

Entsprechend der Themenstellung wurden die Versuche in drei Gruppen eingeteilt:

Versuchsgruppe I

In dieser Versuchsgruppe sollte das Verhalten der ruhenden Muskulatur adrenalektomierter Ratten bei erhöhtem Blutlactatspiegel und die Ausprägung der Glucocorticoidwirkung unter diesen Bedingungen untersucht werden. Gemäß dieser Zielsetzung gliedert sich die Gruppe in zwei Reihen, in denen adrenalektomierte Kontrolltiere und 3,5 Stunden vor Versuchsbeginn mit Betamethason vorbehandelte Tiere unter Lactatzusatz perfundiert wurden (Erhöhung der Lactatkonzentration im Medium um jeweils 3 mMol/l bei 0, 20 und 40 Minuten der Perfusion).

Versuchsgruppe II

Um die Einflüsse von Insulin auf den Skelettmuskelstoffwechsel und die Wechselbeziehung zu Glucocorticoiden unter einem künstlich erhöhten Blutlactatspiegel (Bedingungen wie in Gruppe I) zu untersuchen, wurde in den Reihen der zweiten Versuchsgruppe bei -5 Minuten Insulin (1 mU/ml) dem Medium zugefügt.

Versuchsgruppe III

Die Untersuchung des Verhaltens der ruhenden Muskulatur adrenalektomierter Ratten bei Zuständen mit künstlich erhöhter Blutpyruvatkonzentration war das Ziel der Versuchsgruppe III. Bei diesen Versuchen wurde der Pyruvatspiegel im Perfusionsmedium jeweils um 1 mMol/l bei 0, 20 und 40 Minuten heraufgesetzt. Wie in den oben beschriebenen Versuchsgruppen wurde auch in dieser Gruppe der Einfluß von Glucocorticoiden auf den Muskelstoffwechsel unter diesen Bedingungen untersucht.

Tabelle 1: Versuchseinteilung

Vorbehandlung der Tiere	5-7 Tage vor Perfusionsbeginn bilaterale Adrenalektomie; Nahrungsentzug 24 Std. vor Perfusionsbeginn, 0,9 %ige NaCl-Lösung anstatt Trinkwasser					
Versuchsgruppen	I Lactat - Belastung		II Insulin - Einfluß		III Pyruvat - Belastung	
Perfusionsmedium	Standardmedium 3 mMol/l L(+)-Lactat-Na Zusätze bei 0'/20'/40'		Standardmedium 3 mMol/l L(+)-Lactat-Na Zusätze bei 0'/20'/40' Insulin (1mU/ml) bei -5'		Standardmedium 1 mMol/l Pyruvat-Na Zusätze bei 0'/20'/40'	
Versuchsreihen	C	D	E	F	A	B
Betamethason (5 mg/1000 g Körpergewicht) 3,5 Stunden vor Perfusionsbeginn	ohne	mit	ohne	mit	ohne	mit
n	7	7	9	9	8	8

3.

M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

3.1.

VERSUCHSTIERE / VORBEHANDLUNG

Als Versuchstiere wurden männliche Albinoratten (Inzucht-Stamm Wistar II: Versuchstierhaltung der Universität Düsseldorf), mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 170-230 g verwendet. Nach der bilateralen Adrenalektomie in Hexobarbitalnarkose (4-6 Tage vor der Perfusion) wurden die Tiere mit einem 0,9 %igen NaCl-Zusatz zum Trinkwasser gehalten. Die Ernährung erfolgte mit einem Standardfutter für Versuchstiere (Altromin 1314; Altromin GmbH, Lage). 24 Stunden vor Versuchsbeginn wurde das Futter entzogen.

Zur Untersuchung von Kurzzeiteffekten der Glucocorticoide erhielten die Ratten 3,5 Stunden vor Perfusionsbeginn 0,5 mg/100 g Körpergewicht Betamethason intraperitoneal injiziert.

3.2.

PRÄPARATION

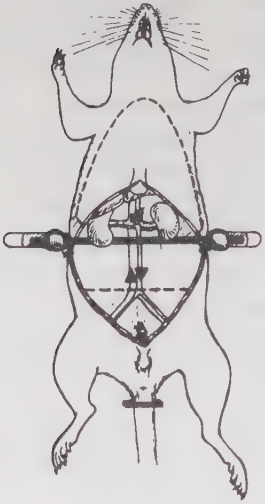
Die Ratten wurden durch intraperitoneale Injektion mit Evipan^{R}-Na (0,02 g/100 g Körpergewicht) narkotisiert und mit 0,2 ml Liquemin^{R} heparinisiert. Die Operation entspricht im wesentlichen der in früheren Arbeiten (12,53-55,74,112) geschilderten Methodik.
Die Bauchhöhle wurde durch einen Medianschnitt vom Processus xiphoideus bis zur Symphyse geöffnet. Nach Ligatur der Bauchwand in Höhe der unteren Nierenpole wurden Vasa testicularia und Ureteren unterbunden und durchtrennt. Im nächsten Schritt erfolgte die Eviszeration des kleinen Beckens mit Entfernung von den Genitalorganen (Hoden, Nebenhoden, Samenblasen, Prostata) und der Harnblase. Auf die Abbindung und Durchtrennung der Art. mesenterica inf. folgte die doppelte Unterbindung des Rektum und distale Durch-

trennung des Colon descendens. Danach wurden Truncus coeliacus, Oesophagus, Ductus choledochus, Vena portae, Art. und Vena hepatica ligiert und das gesamte Magen-Darm-Milz-Paket herausgetrennt. Der Unterbindung von Vasa epigastrica inf. und iliolumbalia folgte die Entfernung von sichtbarem Fettgewebe und Stillegung eventueller Sickerblutungen aus Wundrändern der Bauchdecke mit Hilfe eines Elektrocauters. Dann wurden die Aorta und Vena cava inf. freipräpariert und die Vasa vertebralia ligiert. Das anschließende Abheben der vorderen Thoraxwand führte zum Tod des Tieres. Es folgte die Kanülierung der Aorta mit einer Braunüle^{R} 0,5 (B. Braun-Melsungen AG) und die der Vena cava inf. mit einer Braunüle^{R} 1,0. Um das im Präparat noch vorhandene Blut der Ratte zu entfernen wurde das Versuchstier nach Kanülierung der Aorta an ein Vorperfusionssystem mit 70 ml Medium angeschlossen. Die ischämische Phase während der Kanülierung dauerte nicht länger als 2 Minuten. Durch Abklemmen des Rattenkörpers mit einer Stahlstange in Höhe der unteren Nierenpole wurde der Hinterkörper isoliert, um Verluste von Perfusionsmedium über Gefäßanastomosen in die obere Körperhälfte sowie neuralen Impulse über das Rückenmark zu verhindern. Abschließend wurde der Schwanz abgeklemmt.

Die Gesamtdauer der Präparation betrug 20-25 Minuten. Nach Ablauf der Vorperfusion erfolgte der Anschluß an das eigentliche Perfusionssystem.

Abb.: 1

Schematische Darstellung des isolierten Hinterkörpers nach der Präparation



Die Dreiecke kennzeichnen die Lage der Ein- und Ausflußkanülen in Aorta und Vena cava inf. Die Thoraxwand wird im Bereich der gestrichelten Linie abgehoben.

Distal der Bifurkation der grossen Gefäße (unterbrochene Markierungslinien) befindet sich der perfundierte Gewebebezirk.

3.3.

REAGENTIEN

a) Betamethason (9α-Fluor-16ß-methyl-prednisolon als Dinatriumphosphat; CELESTAN^{R}-solubile, BYK-ESSEX GmbH, München)

b) MC-Insulin Novo ACTRAPID^{R} (Altinsulin der NOVO INDUSTIE GmbH, Mainz); 40 I.E. / ml.
Am Versuchstag erfolgte eine Verdünnung mit 0,9 %iger NaCl-Lösung auf 100 mU/ml Insulinlösung.

c) Heparin LIQUEMIN^{R} (HOFFMANN LA ROCHE AG, Grenzach)
1 ml = 5000 I.E.

d) Hexobarbital EVIPAN^{R}-Na (BAYER AG, Leverkusen)

e) L(+)-Milchsäure-Natriumsalz (CARL ROTH, Karlsruhe)

f) Benztraubensäure-Natriumsalz (MERCK, Darmstadt)

3.4.

PERFUSIONSMEDIUM

Für die Versuche wurde ein semisynthetisches, auf Krebs-Ringer-Puffer basierendes Perfusionsmedium verwendet. Die Zusammensetzung ist aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2
Zusammensetzung des semisynthetischen Blutersatzes für die Hinterkörperperfusion ("Standardmedium").

Bestandteile	Konzentrationen	Präparate und Art der Vorbereitung
Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer, pH 7,38 (KRB-Puffer)	mVal/l K^+ 5,94 Na^+ 143,52 Ca^{++} 5,08 Mg^{++} 2,10 Cl^- 130,70 $H_2PO_4^-$ 1,19 HCO_3^- 24,76	15-minütige Begasung mit Carbogen (95 % O_2 / 5 % CO_2)
Rindererythrocyten als Hämoglobinträger	10 g / 100 ml Hb Hämatokrit 28 %	1 - 2 Tage alte Rindererythrocyten: zweimal mit 0,9 %iger NaCl-Lösung, zweimal mit KRB - Puffer gewaschen
Rinderalbumin	4 g / 100 ml	Cohn - Fraktion V - Pentex / Miles: in KRB - Puffer gelöst - zweimal 24 Std. gegen KRB-Puffer dialysiert
Heparin	5000 USPE/100 ml	LIQUEMIN 5000 Hoffmann - La Roche
D - (+) - Glucose	11 mM	a - D - Glucose p.A. Serva 22700
Pyruvat - Na	0,15 mM	Merck 6619
L - (+) - Lactat	0,7 - 1,5 mM	aus den Erythrocyten

Ein Primärzusatz von 0,15 mMol/l Pyruvat-Na zum Perfusionsmedium war erforderlich, um den Lactat-Pyruvat-Quotienten auf einen Wert von etwa 10 einzustellen.
Nach einfüllen in das Rezirkulationssystem wurde durch Zusatz von Natriumhydrogencarbonat der pH-Wert des Mediums auf physiologische Werte eingestellt (7,37 ± 0,02).

Entsprechend der Fragestellung wurde das Standardmedium während der Perfusion folgendermaßen modifiziert:

a) Versuchsgruppe I: Konzentrationserhöhung des Lactats um je 3 mMol/l bei 0, 20 und 40 Minuten der Perfusion

b) Versuchsgruppe II: Bedingungen wie bei Versuchsgruppe I, jedoch zu Perfusionsbeginn (-5 Minuten; Abb. 3) Zusatz von 1 mU Insulin/ml Perfusionsmedium

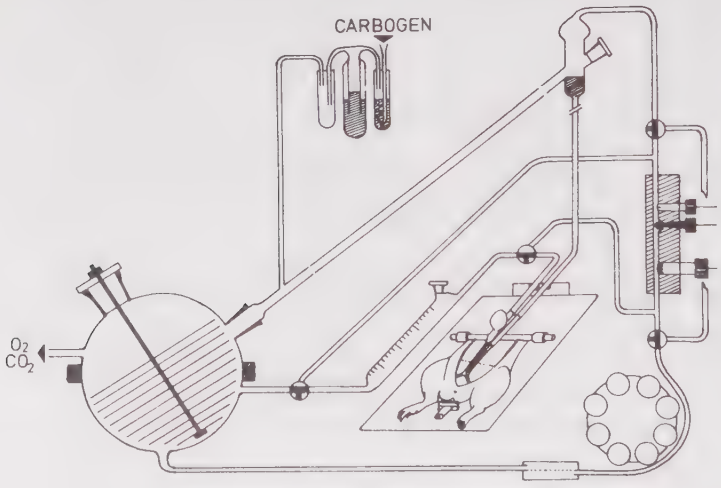
c) Versuchsgruppe III: Konzentrationserhöhung des Pyruvats im Perfusionsmedium um je 1 mMol/l bei 0, 20 und 40 Minuten

3.5.

PERFUSIONSSYSTEM

Die Perfusionsapparatur wurde schon bei früheren Experimenten verwendet und in mehreren Publikationen (12,53-55) des Institutes beschrieben. Einzelheiten sind aus Abb. 2 ersichtlich.

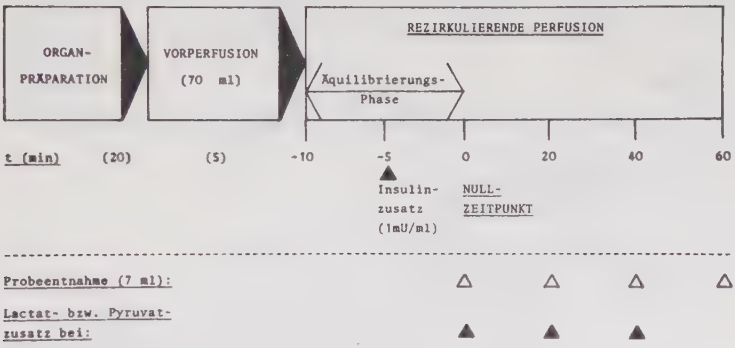
Abb.: 2
Das Perfusionssystem zur isolierten Hinterkörperperfusion



Das System besteht aus einem Scheibenoxygenator, in dem das Medium mit angefeuchtetem Carbogen (95 Vol. % O_2 und 5 Vol. % CO_2) äquilibriert wird. Nach einer Filterpassage

wird es mit Hilfe einer Rollenpumpe, vorbei an einer pH- und O_2-Elektrode, in das Überlaufgefäß befördert. Von dort aus wird das Perfusionsmedium mit einem konstanten hydrostatischen Druck von 80 mm Hg in die Aorta des Hinterkörperpräparates geleitet. Nach Durchströmung des Kapillarbettes fließt das Medium aus der Vena cava inf. in ein graduiertes Röhrchen, das diskontinuierliche Durchflußmessungen erlaubt. Danach gelangt es in den Oxygenator zurück. Die Apparatur befindet sich in einer auf 37° C temperierten Kammer.

Abb.: 3
Zeitlicher Ablauf der isolierten Hinterkörperperfusion



An die Organpräparation schließt sich die Vorperfusion mit 70 ml Einwegmedium an. Dann erfolgt der Anschluß an das mit 105 ml rezirkulierendem Medium gefüllte System. Der Perfusionsablauf beginnt mit einer 10 Minuten dauernden Äquilibrierungsphase, an deren Ende die erste Mediumprobe entnommen wird ("Nullzeitpunkt" der Perfusion). Die weiteren Probeentnahmen erfolgen bei 20, 40 und 60 Minuten. Am Perfusionsende werden aus beiden Mm. gastrocnemii Gewebsproben entnommen, die der Bestimmung des Muskelfeuchtgewichtes und der Muskelmetabolite dienen.

3.6.

BESTIMMUNG VON KONTROLLPARAMETERN UND SUBSTRATEN

1) pH und O_2-Partialdruck

Mit Durchflußelektroden (Acid-base digital analyzer PHM 72, RADIOMETER, Kopenhagen) wurden arterieller pH und pO_2-Wert kontinuierlich während der gesamten Perfusionsdauer gemessen.

2) O_2-Gehalt von arteriellen und venösen Perfusatproben

Der Sauerstoffgehalt des arteriellen und venösen Blutes wurde direkt (in ml O_2/100 ml Medium) elektrometrisch erfaßt (Sauerstoffanalysator Lex-O_2-Con, LEXINGTON INSTRUMENTS CORP., Waltham, Mass., USA).

3) Durchfluß

Diskontinuierliche Messungen in 10 Minuten-Abständen

4) Metabolitanalysen

Glucose

Enteiweißung: 0,33 N Perchlorsäure
Bestimmung: Glucoseoxidase-Methode (GOD-Perid, Testkombination 15756; Boehringer GmbH, Mannheim) nach WERNER et al. (125)

Pyruvat

Enteiweißung: 1 N Perchlorsäure
Bestimmung: mit Lactatdehydrogenase (Testkombination 15973; Boehringer GmbH, Mannheim) nach CZOK & LAMPRECHT (126).

Lactat

Enteiweißung: 0,6 N Perchlorsäure
Bestimmung: mit Lactatdehydrogenase nach GUTMANN & WAHLEFELD (127).

Alanin

Enteiweißung:	0,6 N Perchlorsäure
Bestimmung:	mit Alanindehydrogenase (L-Alanindehydrogenase aus Bacillus subtilis, 150 I.E./ml, 15224; Boehringer GmbH, Mannheim) nach WILLIAMSON (128).
Modifizierung:	Das Enzympräparat wird unverdünnt in dem Test eingesetzt. Eine Dialyse gegen Phosphatpuffer ist nicht notwendig. Bei höheren Alaninkonzentrationen (> 0,15 mMol/l) in der enteiweißten Probe soll diese vor Testeinsatz mit aqua bidest. weiter verdünnt werden.

Glutamat und Glutamin

Enteiweißung:	1 N Perchlorsäure
Bestimmung:	Glutamat mit Glutamatdehydrogenase (GlDH aus Rinderleber; Lösung in Glycerin, 127710; Boehringer GmbH, Mannheim) nach BERNT & BERGMEYER (129). Glutamin mit Glutaminase (L-Glutaminase; Sigma Chemicals Comp.) und GlDH nach LUND (130).

Glykogen und Substrate im Muskelzellwasser

Probe:	aus M. gastrocnemius, nach Perfusionsende im Frierstopverfahren entnommen. für die Bestimmung der intrazellulären Substrate wurde die Probe pulverisiert, mit 0,6 N Perchlorsäure enteiweißt und mit KOH neutralisiert.
Glykogen-Bestimmung:	mit der Anthronmethode nach SEIFTER et al. (131).
Pyruvat, Lactat und Alanin:	entsprechend den vorgenannten Bestimmungsmethoden.

3.7.

MATHEMATISCHE AUSWERTUNG DER VERSUCHE

Unter Berücksichtigung der entnommenen Probemengen (7 ml) und der Restvolumina im Perfusionssystem, sowie der Substratkonzentrationen zum Zeitpunkt der Probeentnahme, können Freisetzungs- oder Aufnahmeraten durch die Hinterkörpermuskulatur errechnet und zu Kumulativen addiert werden. In Anlehnung an (112) erfolgt die Umrechnung auf 30 g Muskulatur (entsprechend des Muskelanteils im Hinterkörper einer 180 g schweren Ratte). Durch Lactat- und Pyruvatzusätze hervorgerufene Erhöhung der Mediumkonzentration werden um das Extrazellulärvolumen, das im Durchschnitt 0,2 ml/g Muskel beträgt (68), korrigiert. Die Konzentration der Muskelmetabolite (Lactat, Pyruvat, Alanin) wird auf Zellwasser bezogen und wie bei (68) nach folgender Formel berechnet:

$$C_i = \frac{C_m - (C_{Pl} \times E)}{(M - E)}$$

C_i = Substratkonzentration im Muskelzellwasser (µMol/ml)

C_m = Substratkonzentration in µMol/g Muskelfeuchtgewicht

C_{Pl} = Substratkonzentration im Plasmawasser (µMol/ml): Konzentration im Vollperfusat (µMol/ml) x 1,11 (Faktor 1,11: Wassergehalt des Plasmas / Wassergehalt des Vollperfusats = 94 % / 85 %)

E = Anteil des Extrazellulärraums am Muskelfeuchtgewicht (0,2 ml/g)

M = Wasseranteil am Muskelfeuchtgewicht (0,77 ml/g)

Die Ergebnisse wurden mit dem t - Test nach Student ausgewertet. Als Signifikanzschranke galt $2p < 0,05$ (143). Die Werte in Tabellen und Abbildungen beziehen sich auf 30 g Muskulatur und sind in $\bar{x} \pm S_{EM}$ angegeben.

4.

E R G E B N I S S E

4.1.

PERFUSIONSVERLAUF (Kontrollparameter)

Zur Beurteilung der Intaktheit des Muskelpräparates wurden neben dem makroskopischen Aspekt (gute Durchblutung der Pfotenbereiche) folgende Parameter während der Perfusion bestimmt: die arteriellen pH- und pO_2-Werte, die Durchflußraten des Mediums und der Wassergehalt des Musgelgewebes (Tabelle 3).

Im Verlauf der Perfusion bleibt der pH-Wert im physiologischen Bereich und zeigt auch bei Versuchen mit mehrmaligen Lactat- oder Pyruvatzusätzen keine wesentlichen Schwankungen. Der primäre pH-Wert beträgt 7,37 ± 0,02; er sinkt während der Versuche nur unwesentlich auf 7,34 ± 0,02 ab. Die Natriumsalze von Pyruvat und L(+)-Lactat rufen bei Zusatz zum Medium kurzfristig einen pH-Anstieg hervor.

Im Verlauf der Versuche sinkt der arterielle Sauerstoffpartialdruck leicht ab; mit durchschnittlich 318 mm Hg liegt er jedoch am Perfusionsende noch über den normalen physiologischen Werten. Die Abnahme des O_2-Druckes ist auf eine Teiläquilibrierung des Carbongemisches im System mit Außenluft während der Probeentnahmen und auf abnehmende Oxygenatorfüllung zurückzuführen.
Die mittlere Durchflußrate beträgt 13 ml/min. x 30 g Muskulatur und gewährleistet eine ausreichende Sauerstoffversorgung des Gewebes (51).
Während der Perfusionen treten keine Gewebsödeme auf. Mit einem Mittelwert von 75,2 % stimmt der Wassergehalt des Muskelgewebes mit in vivo-Werten (75,1 %) überein. Auch die Hämolyserate der Rindererythrozyten bleibt sehr gering (0,061 g/100 ml Plasma zum Beginn, 0,092 g/100 ml Plasma am Ende der Perfusion).

4.2.

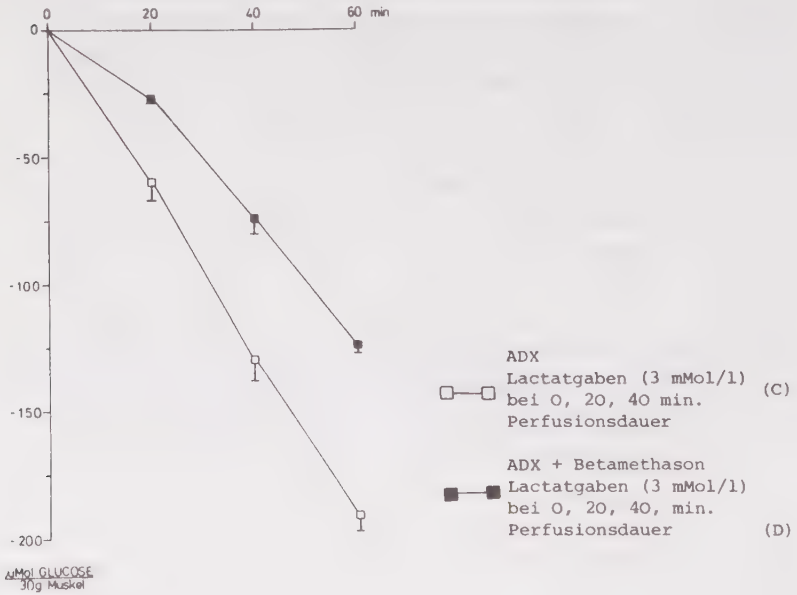
VERSUCHSGRUPPE I: exogene Lactatbelastung

4.2.1.

Glucose

Im Verlauf der Perfusion kommt es zu einer kontinuierlichen Glucoseaufnahme durch die Hinterkörpermuskulatur. Durch Lactatbelastung ist die Menge der aufgenommenen Glucose gegenüber Versuchen mit Standardmedium (ohne Zusätze), von -141,14 µMol/h x 30 g Muskel auf -190,68 µMol/h x 30 g Muskel gestiegen.
Bei Betamethason vorbehandelten Tieren ist die Glucoseaufnahme aus dem Medium gegenüber der Kontrollreihe signifikant ($p < 0{,}001$) vermindert (Abb. 4; Tabelle 8). In diesen Versuchen ist der Glucocorticoideffekt deutlicher ausgeprägt als in Kontrollversuchen ohne Lactatzusätze, in denen nur eine etwa 20 %ige Glucoseaufnahmehemmung gegenüber einer 35 %igen in den vorliegenden Versuchen feststellbar ist.

Abb.: 4
Glucoseaufnahme durch das Hinterkörperpräparat



4.2.2.

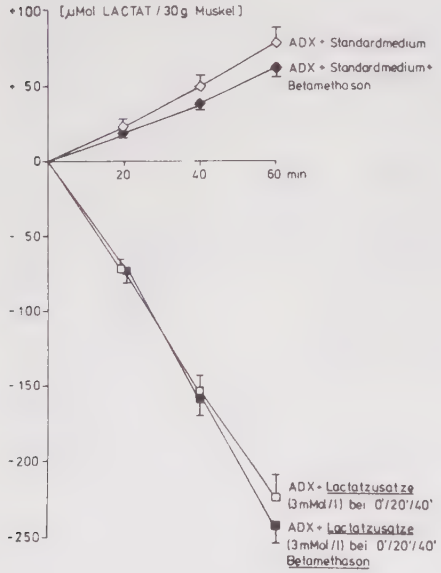
Lactat

Zum Nullzeitpunkt der Perfusion beträgt die Lactatkonzentration im Medium 1,79 mMol/l (Tabelle 4). Die bei Standardperfusionen zu beobachtende Lactatproduktion durch das Hinterkörperpräparat (83,77 µMol/h x 30 g Muskel) kommt durch Lactatzusätze bei 0, 20 und 40 Minuten zum Stillstand und wird zu einer Aufnahme umgekehrt. Wie aus der Abb. 5 ersichtlich ist, verläuft die Lactatextraktion linear und zeigt in den ersten 40 Minuten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Versuchsreihen.

Die Betamethasonvorbehandlung führt in der letzten Perfusionsphase (40-60 Minuten) zu einer geringen Steigerung ($p < 0{,}025$) der Lactataufnahme gegenüber der Kontrollreihe.

Abb.: 5

Lactataufnahme durch das Hinterkörperpräparat



4.2.3.

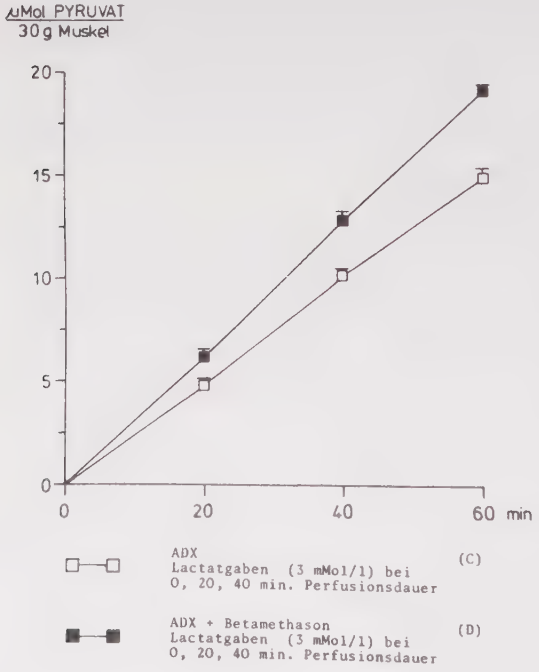
Pyruvat

Im Gegensatz zur Muskulatur adrenalektomierter Ratten, die mit Standardmedium (ohne Zusätze) perfundiert werden und eine leichte Pyruvataufnahme zeigen (-1,88 µMol/h x 30 g Muskel), führen die Lactatzusätze zu einer kontinuierlichen Pyruvatfreisetzung aus dem Hinterkörperpräparat.

Unter Betamethasoneinfluß kommt es, wie aus der Abb. 6 ersichtlich ist, zu einer signifikanten ($p < 0{,}001$) Erhöhung der Pyruvatabgabe aus der Muskulatur.

Abb.: 6

Pyruvatfreisetzung durch das Hinterkörperpräparat

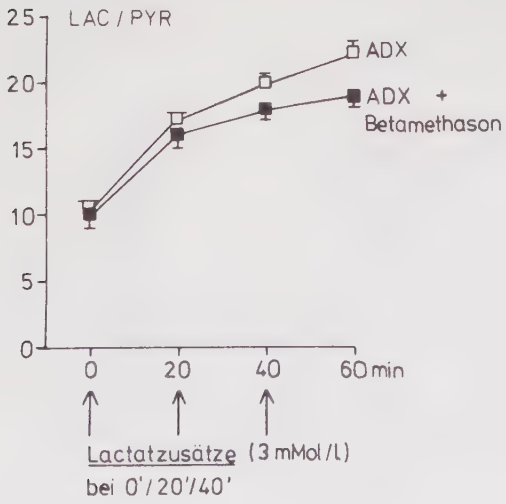


4.2.4.

Lactat/Pyruvat-Quotient

Der Quotient beträgt zum Nullzeitpunkt der Perfusion im Mittel 10 und liegt somit im physiologischen Bereich. Durch die exogene Lactatbelastung kommt es in den ersten 20 Minuten zu einem Anstieg des Quotienten um 70 % des Ausgangswertes. Die weiteren Erhöhungen der Lactatkonzentration führen nur noch zu einer geringen Zunahme des Wertes (Abb. 7). Im Vergleich zu Versuchen mit Standardmedium ist nur der 20-Minutenwert des Quotienten (28 %) erhöht; die Werte bei 40 und 60 Minuten zeigen keinen signifikanten Unterschied.
Bei betamethasonvorbehandelten Tieren ist der Quotient im Vergleich zur Kontrollreihe geringfügig vermindert. Die Lactatmehraufnahme in der letzten Perfusionsphase (40-60 Minuten) führt, verbunden mit der erhöhten Pyruvatfreisetzung, zu einer signifikanten ($p < 0{,}02$) Abnahme des Wertes (Tabelle 11).

Abb.: 7
Lactat/Pyruvat-Quotient im Perfusionsmedium

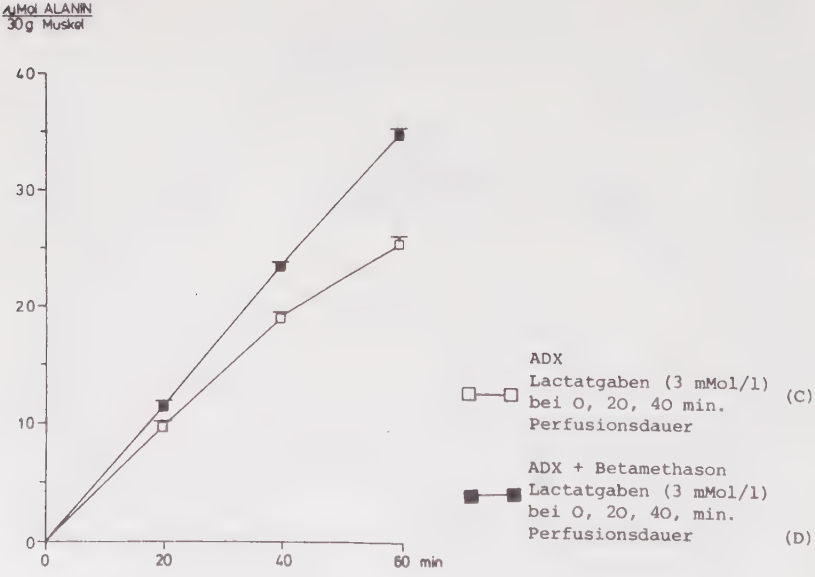


4.2.5.

Alanin

Während der Perfusion kommt es zu einer kontinuierlichen Alaninfreisetzung aus der Hinterkörpermuskulatur. Durch die Lactatzusätze wird die Gesamtmenge des abgegebenen Alanins gegenüber Versuchen mit Standardmedium (ohne Zusätze) von 18,21 µMol/h x 30 g Muskel auf 27,11 µMol/h x 30 g Muskel gesteigert.
Unter Betamethason kommt es zu einer signifikanten Erhöhung ($p < 0{,}001$) der Alaninabgabe an das Medium (Abb. 8). Diese Steigerung der Alaninfreisetzung durch Glucocorticoide korreliert mit früheren Ergebnissen von Kühn-Velten (53) sowie Thienhaus und Mitarbeitern (12), die bei Perfusionen ohne Lactatzusatz eine etwa 50 %ige Erhöhung erhielten. Lactatbelastung hat also keinen direkten Einfluß auf die Glucocorticoidwirkung; sie erhöht jedoch das Ala-

Abb.: 8
Alaninfreisetzung durch das Hinterkörperpräparat



ninausgangsniveau, auf dem sich dieser Effekt auswirkt.

Die Menge des freigesetzten Alanins bleibt bei Versuchsreihen mit Betamethason in jeder Perfusionsphase fast konstant. Dagegen neigt die Muskulatur der Kontrollreihe zu einer Verminderung der Alaninabgabe, was sich in der Abflachung der Kurve bemerkbar macht.

4.2.6.

Glutamin / Glutamat

Durch Lactatzusätze wird die Glutaminfreisetzung auf 12,80 µMol/h x 30 g Muskel gegenüber 16,96 µMol/h x 30 g Muskel bei Versuchen mit Standardmedium vermindert, was im Kontrast zum Alaninverhalten steht. Dagegen wird die Glutamatabgabe an das Medium durch exogene Lactatbelastung gegenüber Perfusionen ohne Zusätze (0,468 µMol/h x 30 g Muskel) etwa 7-fach erhöht.

Abb.: 9
Glutamin- / Glutamatfreisetzung durch das Hinterkörperpräparat während einer Stunde Perfusion

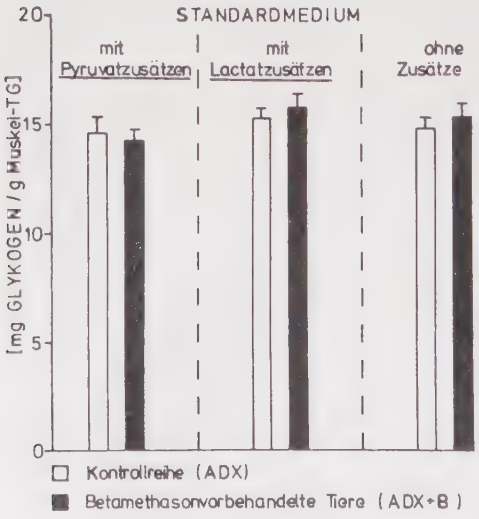
Die Glutaminfreisetzungsrate wird durch Betamethason deutlich ($p < 0{,}001$) gesteigert. Mit 20,4 µMol/h x 30 g Muskel liegt sie jedoch unterhalb des Wertes wie bei Versuchen mit Standardmedium (24,105 µMol/h x 30 g Muskel; 119). Durch Glucocorticoidvorbehandlung wird die Glutamatabgabe aus der Hinterkörpermuskulatur um 17 % ($p < 0{,}01$) gegenüber der Kontrollreihe erhöht.

4.2.7.

Glykogen

Der Glykogengehalt im M. gastrocnemius unter exogener Lactatbelastung (15,28 mg/g TG) zeigt keinen signifikanten Unterschied gegenüber dem Wert bei Perfusionen ohne Zusätze (14,81 mg/g TG).
Unter Betamethason ist nach einer Stunde Perfusionsdauer kein signifikanter Unterschied im Glykogengehalt zur Kontrollreihe feststellbar (Abb. 10; Tabelle 9).

Abb.: 10
Glykogengehalt des Musculus gastrocnemius nach einer Stunde Perfusionsdauer

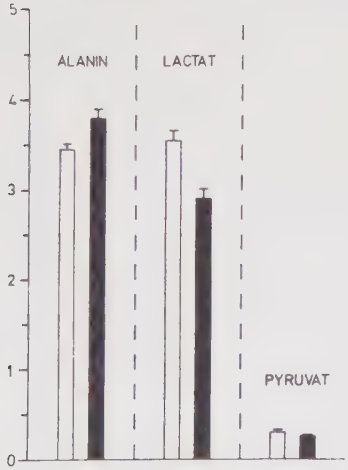


4.2.8.

Metabolite im Muskelgewebe

Die intrazelluläre Lactat- und Pyruvatkonzentration in der Muskelfaser werden durch Lactatzusätze um 30 % (Lactat) und 76 % (Pyruvat) gegenüber Perfusionen mit Standardmedium erhöht.
Bei glucocorticoidvorbehandelten Tieren kommt es zu einer Abnahme der Lactat- bzw. Pyruvatkonzentration im Muskelzellwasser um durchschnittlich 20 % ($p < 0{,}005$ für Lactat; $p < 0{,}05$ für Pyruvat).
Mit einem mittleren Wert von 3,462 µMol/ml Zellwasser liegt die Alaninkonzentration der Muskelzelle nach 60 Minuten Perfusion unter Lactatbelastung leicht (um 9 %) über dem intrazellulären Alaninspiegel bei Perfusionen ohne Zusätze (3,194 µMol/ml Zellwasser).
Durch Betamethasonvorbehandlung kommt es - ähnlich den Verhältnissen im Medium - zu einer mäßigen ($p < 0{,}02$)

Abb.: 11
Metabolitkonzentration im Muskelzellwasser nach einer Stunde Perfusion
[µMol / ml Muskelzellwasser]



□ ADX
Lactatgaben (3 mMol/l)
bei 0, 20, 40 min.
Perfusionsdauer (C)

■ ADX + Betamethason
Lactatgaben (3 mMol/l)
bei 0, 20, 40, min.
Perfusionsdauer (D)

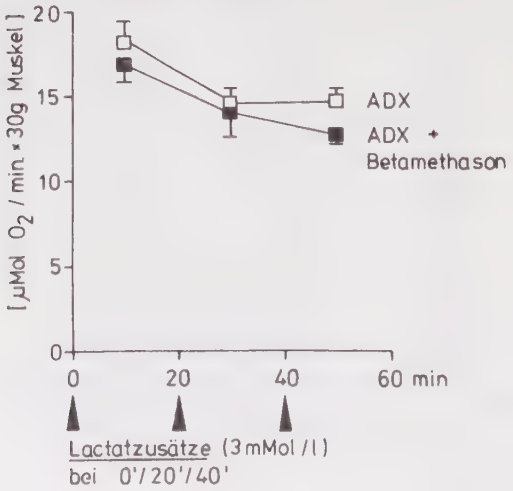
Erhöhung der Alaninkonzentration gegenüber Tieren der Kontrollreihe (Abb. 11; Tabelle 9). Die 10 %ige Steigerung steht in Übereinstimmung mit Ergebnissen von Perfusionen ohne Zusätze, bei denen es zu einer etwa 15 %igen Erhöhung der intrazellulären Alaninkonzentration durch Betamethason kam.

4.2.9.

Sauerstoffverbrauch

Die Muskulatur der adrenalektomierten Tiere verbraucht unter exogener Lactatbelastung insgesamt 952,80 µMol O_2/h x 30 g Muskel, was einer 13 %igen Steigerung (nicht signifikant) gegenüber Perfusionen mit Standardmedium entspricht (53). Die Sauerstoffaufnahme beträgt im Mittel 15,88 µMol/min. x 30 g Muskel und zeigt im Verlauf der Perfusion eine leichte Abnahme.
Unter Betamethasonvorbehandlung kommt es zu einer leichten, nicht signifikanten Verminderung der Sauerstoffaufnahme (Tabelle 10).

Abb.: 12
Sauerstoffverbrauch durch das Hinterkörperpräparat während einer Stunde Perfusion



4.3.

VERSUCHSGRUPPE II: Insulineinfluß auf den Muskelstoffwechsel bei Zuständen mit erhöhter Lactatkonzentration

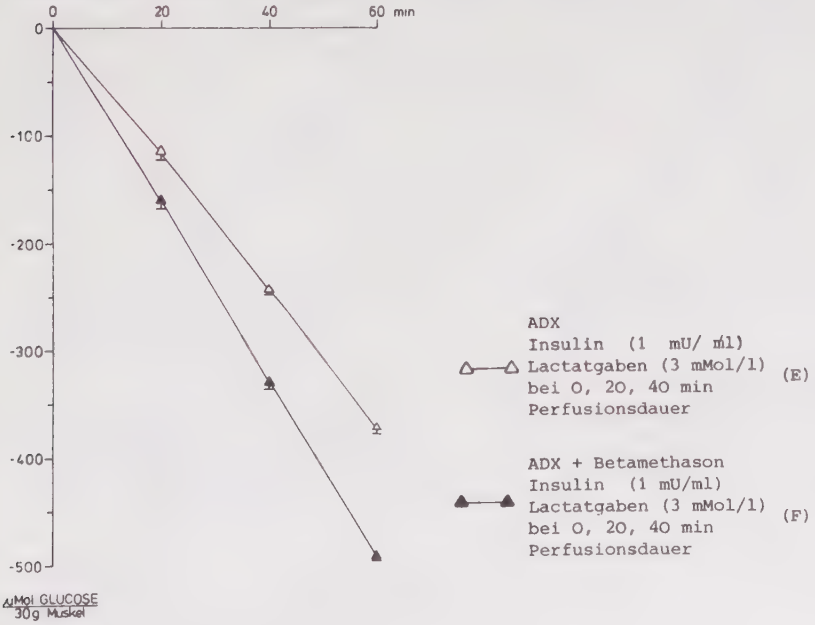
4.3.1

Glucose

Insulingabe (1 mU/ml Medium) ruft eine im Mittel zweifache Erhöhung der Glucoseaufnahme im Vergleich zu den Kontrollperfusionen (ohne Hormonzusätze) hervor. Die in der Versuchsgruppe I zu beobachtende Steigerung der Glucoseaufnahme unter exogener Lactatbelastung ist auch in diesem Versuchen, allerdings deutlich abgeschwächt, sichtbar. So erhöhen Lactatzusätze die Menge der aufgenommenen Glucose auf -371,56 µMol/h x 30 g Muskel gegenüber -343,37 µMol/h x 30 g Muskel bei Versuchen mit Standardmedium und Insulin; diese Steigerung ist jedoch nicht signifikant.

Abb.: 13

Glucoseaufnahme durch das Hinterkörperpräparat



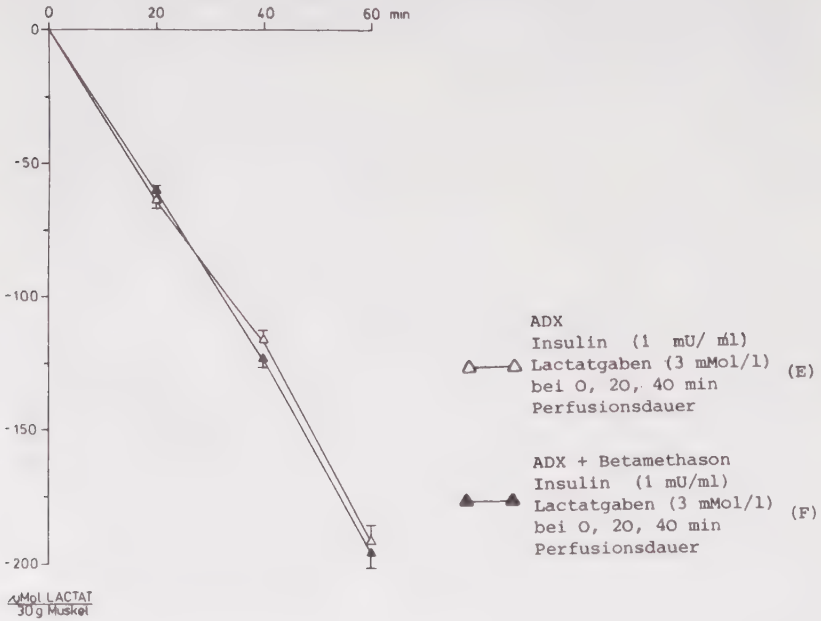
Durch Glucocorticoidvorbehandlung wird die Insulinwirkung nicht abgeschwächt sondern sogar gesteigert ($p < 0{,}001$). Ein ähnlicher Effekt ist auch bei Versuchen ohne Lactatzusätze feststellbar (54), allerdings sind hierbei keine Signifikanzen zu sichern.

4.3.2.

Lactat

Unter Insulin kommt es wie in den Versuchen der Gruppe I zu einer stetigen Lactataufnahme. Trotz der verdoppelten Glucoseaufnahme wird jedoch die Lactatextraktion nur um 15 % ($p < 0{,}005$) gegenüber den Kontrollversuchen (ohne Insulin) vermindert.
Die Lactataufnahme bleibt von der Betamethasonvorbehandlung unbeeinflußt (Abb. 14).

Abb.: 14
Lactataufnahme durch das Hinterkörperpräparat



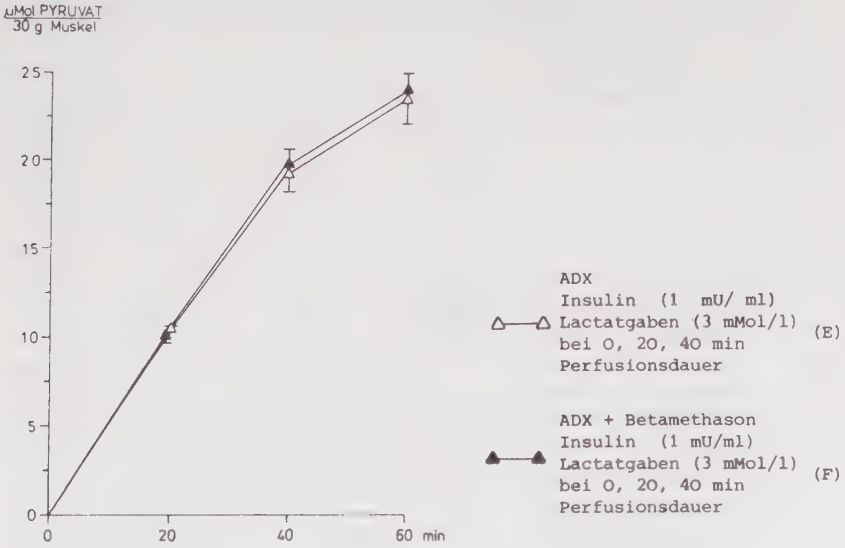
4.3.3.

Pyruvat

Auch unter Insulinzusatz zum Medium ist (wie in Versuchsgruppe I) eine Pyruvatfreisetzung aus der Hinterkörpermuskulatur zu beobachten, die jedoch in ihrer Kinetik verändert ist. Die Menge des an das Medium abgegebenen Pyruvats nimmt, im Gegensatz zu Versuchen ohne Insulin, im Laufe der Perfusion ständig ab, was sich in einer Abflachung der Kurve bemerkbar macht (Abb. 15). Insgesamt resultiert jedoch eine erhebliche ($p < 0{,}001$) Pyruvatmehrbildung gegenüber Kontrollversuchen ohne Insulin.

Die Betamethasonwirkung auf die Pyruvatabgabe wird durch Insulin aufgehoben. Im Gegensatz zu Perfusionen ohne Insulin kommt es zu keiner Steigerung der Pyruvatfreisetzung durch die Muskulatur.

Abb.: 15
Pyruvatfreisetzung durch das Hinterkörperpräparat

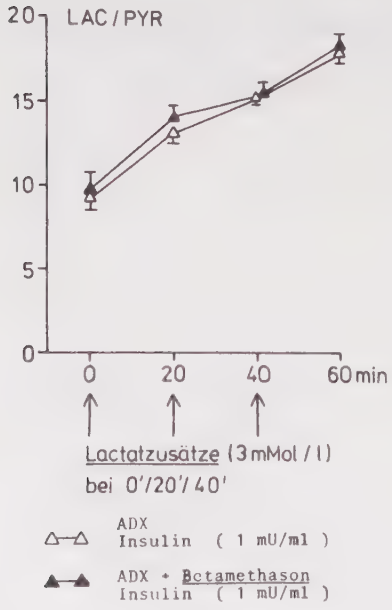


4.3.4.

Lactat/Pyruvat-Quotient

Die erste Lactatgabe (3 mMol/l) ruft einen Anstieg des Quotienten von 9,23 auf 13,11 hervor. Die folgenden Erhöhungen der Lactatkonzentration im Medium haben nur einen geringfügigen weiteren Anstieg des Wertes zur Folge (Abb. 16). In jeder Perfusionsphase liegt der Quotient signifikant niedriger ($p < 0{,}001$) als bei Versuchsgruppe I, was mit der beschriebenen Steigerung der Pyruvatfreisetzung unter Insulin korreliert.
Betamethasonvorbehandlung ändert den Quotienten kaum, wie aus dem fehlenden Einfluß des Hormons auf die Lactataufnahme und Pyruvatfreisetzung abzuleiten ist.

Abb.: 16
Lactat/Pyruvat-Quotient im Perfusionsmedium



4.3.5.

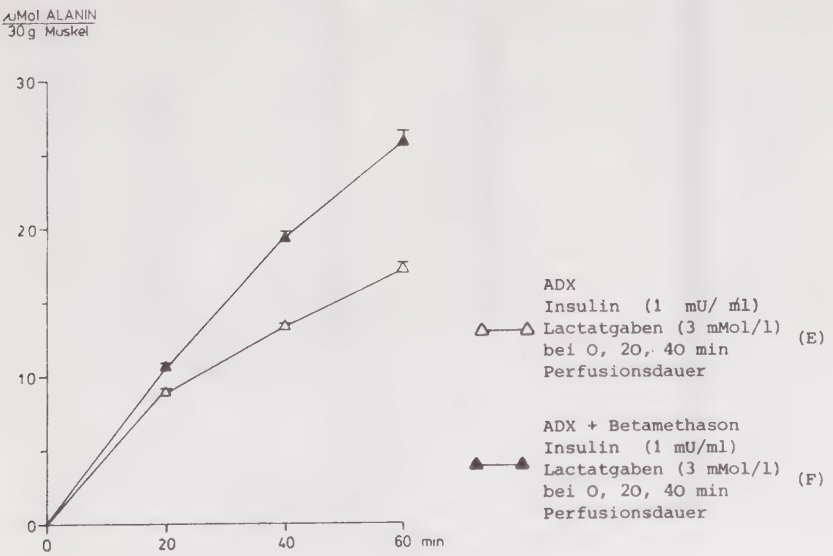
Alanin

Die Alaninfreisetzung wird durch Insulin signifikant ($p < 0{,}001$) auf 17,19 µMol/h x 30 g Muskel gegenüber 27,11 µMol/h x 30 g Muskel bei Versuchen ohne Insulinzusatz vermindert. Lactatzusätze beeinflussen die Hormonwirkung nicht; adrenalektomierte Ratten, die mit Standardmedium und Insulin perfundiert werden, setzen annähernd gleiche Alaninmengen frei (16,14 µMol/h x 30 g Muskel; 54), wie unter exogener Lactatbelastung und Insulin.

Die unter Betamethason zu beobachtende Alaninabgabe-Steigerung wird durch Insulin nicht aufgehoben, sondern das Alaninausgangsniveau, auf dem sich dieser Effekt auswirkt, wird erniedrigt. Wie aus der Abb. 17 ersichtlich ist, setzt die Hinterkörpermuskulatur signifikant mehr ($p < 0{,}001$; 51 %) Alanin frei als bei der Kontrollreihe, was mit Ergebnissen bei Perfusionen mit Standardmedium und Insulin (54) korreliert, bei denen es ebenfalls zu einer Steigerung etwa gleicher Größenordnung nach Betamethason kommt.

Abb.: 17

Alaninfreisetzung durch das Hinterkörperpräparat

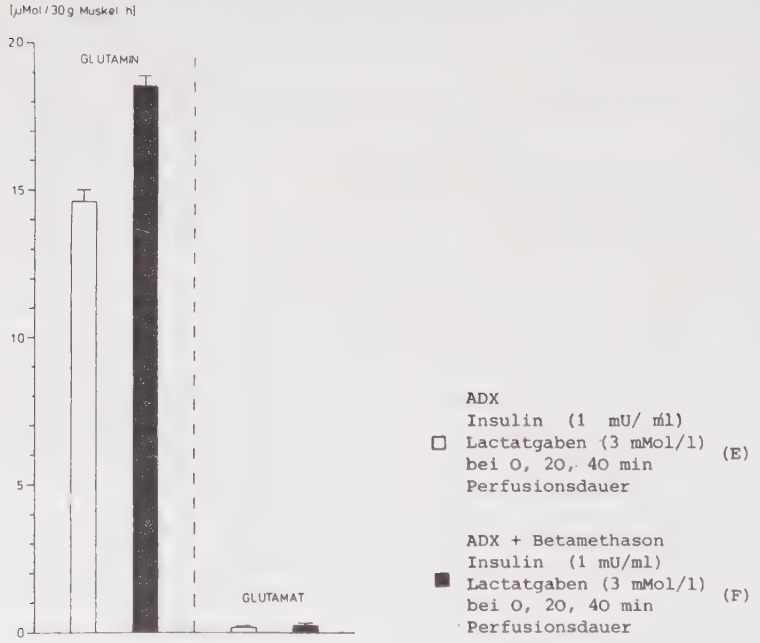


4.3.6.

Glutamin / Glutamat

Während die Glutaminfreisetzung durch Insulin, im Gegensatz zu Alanin, unbeeinflußt bleibt, ist bei Glutamat eine hochsignifikante Verminderung der Glutamatabgabe im Vergleich zur Versuchsgruppe I zu verzeichnen. Wie aus der Abb. 18 ersichtlich, kommt die Glutamatfreisetzung fast zum Stillstand.
Durch Betamethasonvorbehandlung kommt es zu einer signifikanten ($p < 0,001$) Erhöhung der Glutamin- und Glutamatfreisetzung. Mit 18,61 µMol/h x 30 g Muskel liegt die Glutaminfreisetzung jedoch signifikant niedriger ($p < 0,05$) als bei Perfusionen ohne Insulinzusatz (20,40 µMol/h x 30 g Muskel).

Abb.: 18
Glutamin- / Glutamatfreisetzung durch das Hinterkörperpräparat während einer Stunde Perfusion



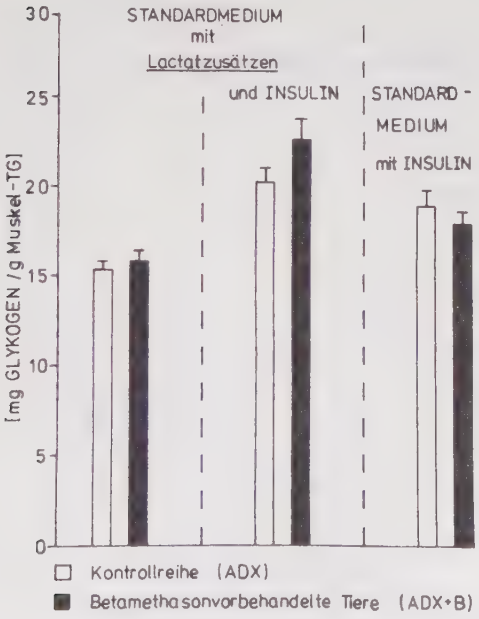
4.3.7.

Glykogen

Insulin führt zu einem Anstieg des Glykogengehaltes im M. gastrocnemius auf 20,16 mg/g TG gegenüber 15,28 mg/g TG bei insulinfrei perfundierten Präparaten. Lactatzusätze haben einen geringfügigen Effekt auf den Glykogengehalt des M. gastrocnemius, der um 7 % gegenüber Versuchen mit Insulin und Standardmedium (18,79 mg/g TG; 54) erhöht ist.

Betamethasongaben führen, trotz annähernd gleicher Lactataufnahme in beiden Versuchsreihen zur Steigerung des Glykogengehaltes gegenüber der Kontrollreihe (Abb. 19).

Abb.: 19
Glykogengehalt des Musculus gastrocnemius nach einer Stunde Perfusion



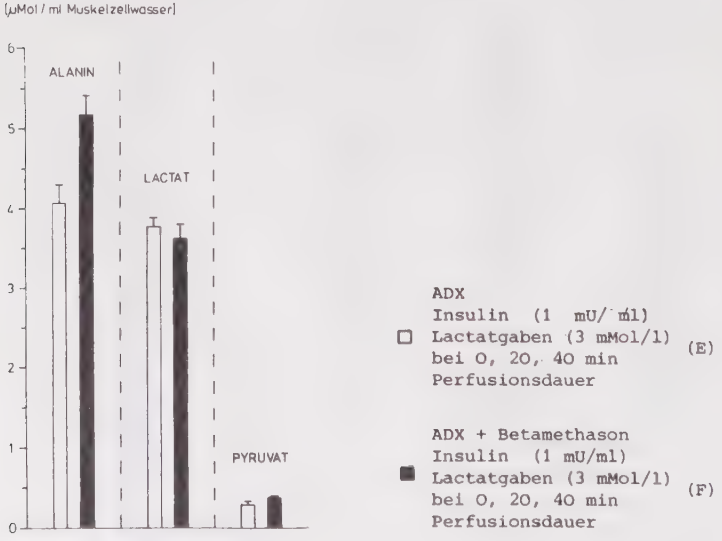
4.3.8.

Metabolite im Muskelgewebe

Die Lactat- und Pyruvatkonzentration in der Muskelfaser wird durch Insulin kaum verändert gegenüber Perfusionen ohne Insulin (Tabelle 9).
Der intrazelluläre Lactatspiegel bleibt von Glucocorticoidgaben unbeeinflußt. Betamethasonvorbehandlung ruft einen signifikanten ($p < 0,02$) Anstieg der intrazellulären Pyruvatkonzentration hervor.

Unter Insulin kommt es zu einer 18 %igen Steigerung der intrazellulären Alaninkonzentration, wie der Vergleich mit der Versuchsgruppe I zeigt (Tabelle 9).
Glucocorticoidvorbehandlung bewirkt einen signifikanten ($p < 0,01$) Anstieg der Alaninkonzentration in der Muskelfaser gegenüber den Tieren der Kontrollreihe (Abb. 20).

Abb.: 20
Metabolitkonzentration im Muskelzellwasser nach einer Stunde Perfusion



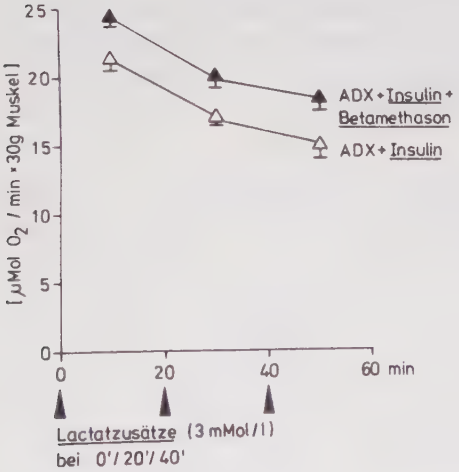
4.3.9.

Sauerstoffverbrauch

Die Gesamtmenge des aufgenommenen O_2 lag trotz der zweifachen Steigerung der Glucoseaufnahme nur um 12 % höher als bei Versuchen ohne Insulingabe. Der Sauerstoffverbrauch beträgt im Mittel 17,84 µMol/min. x 30 g Muskel und ist im Verlauf der Perfusion leicht rückläufig.

Glucocorticoidvorbehandlung führt unter diesen Bedingungen zu einer signifikanten ($p < 0,02$) Steigerung des Sauerstoffverbrauches (Abb. 21).

Abb.: 21
Sauerstoffverbrauch durch das Hinterkörperpräparat während einer Stunde Perfusion



4.4.

VERSUCHSGRUPPE III: exogene Pyruvatbelastung

4.4.1.

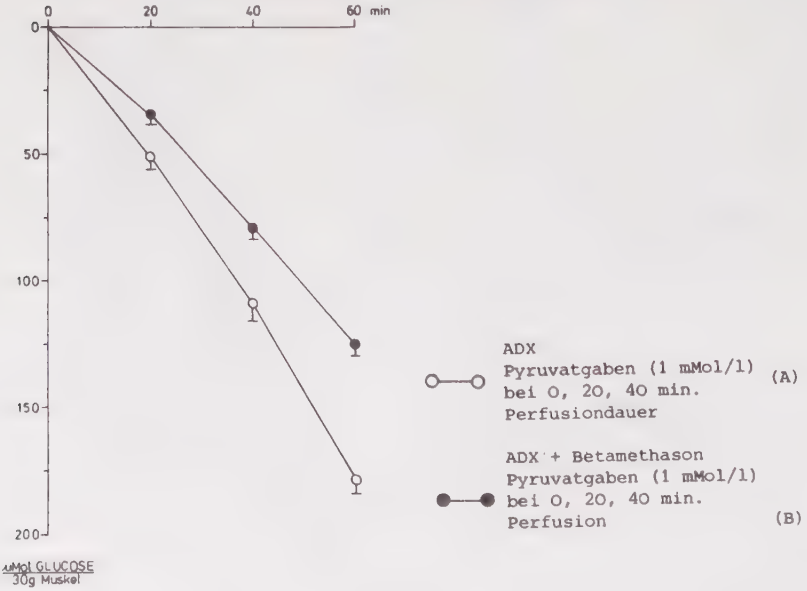
Glucose

Die Hinterkörpermuskulatur nimmt unter exogener Pyruvatbelastung annähernd gleiche Glucosemengen auf, wie bei Versuchen mit Lactatzusätzen (Tabelle 6-8). Insgesamt ist die Menge der aufgenommenen Glucose um 26 % gegenüber Perfusionen mit Standardmedium (ohne Zusätze) erhöht.

Eine Betamethasonvorbehandlung der Versuchstiere ruft eine signifikante Hemmung ($p < 0{,}001$) der Glucoseaufnahme hervor gegenüber den unbehandelten Ratten (Abb. 22). Ähnlich den Versuchen mit Lactatbelastung ist auch durch Pyruvatzusätze eine Akzentuierung des Glucocorticoideffektes feststellbar, da die Betamethasongaben eine 30 %ige Glucoseaufnahmehemmung, gegenüber einer etwa 20 %igen bei Perfusionen mit Standardmedium bewirken.

Abb.: 22

Glucoseaufnahme durch das Hinterkörperpräparat



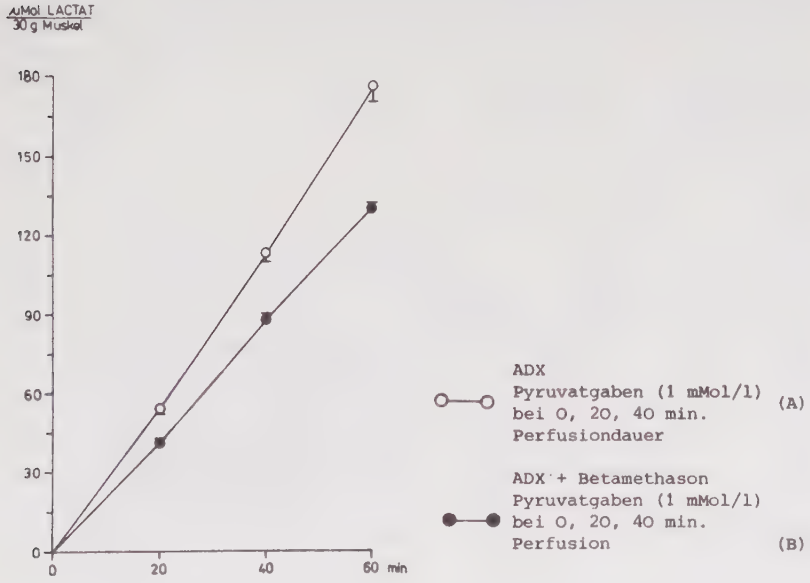
4.4.2.

Lactat

Unter Pyruvatzusatz zum Medium kommt es zu einer Lactatfreisetzung durch die Hinterkörpermuskulatur, die um über das Doppelte (121 %) der bei Perfusionen mit Standardmedium gesteigert wird (53).

Betamethasonvorbehandlung führt zu einer signifikanten Abnahme ($p < 0{,}001$) der Lactatbildung. Die 26 %ige Hemmung der Lactatfreisetzung korreliert mit Ergebnissen bei Perfusionen ohne Pyruvatzusätze, bei denen es ebenfalls zu einer Abnahme etwa gleicher Größenordnung nach Betamethason kommt (Abb. 23).

Abb.: 23
Lactatfreisetzung durch das Hinterkörperpräparat



4.4.3.

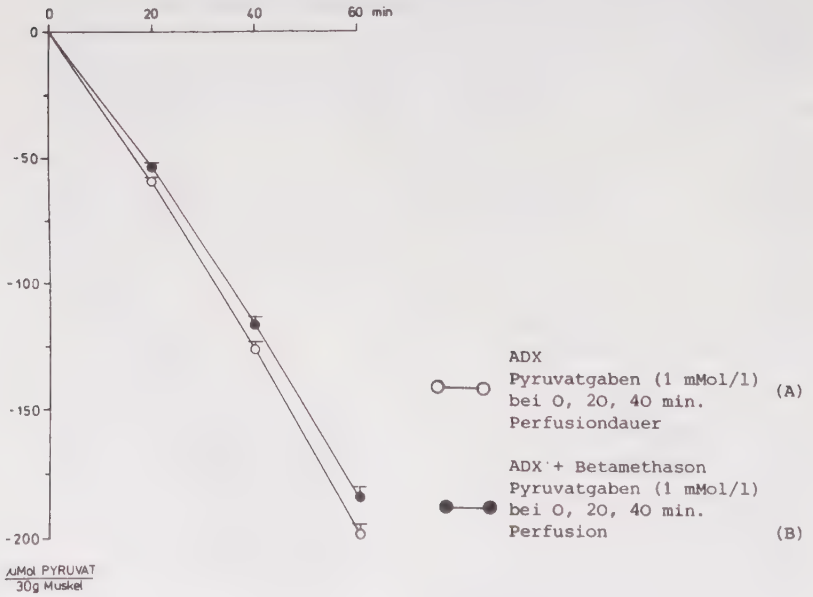
Pyruvat

Bei Zuständen mit erhöhtem Pyruvatspiegel kommt es zur kontinuierlichen Pyruvatextraktion aus dem Medium (-198,39 µMol/h x 30 g Muskel). Im Vergleich dazu nimmt die Hinterkörpermuskulatur bei Versuchen mit Standardmedium nur -1,88 µMol Pyruvat/h x 30 g Muskel auf.

Glucocorticoide bewirken eine Hemmung der Aufnahme um 7 % ($p < 0,05$) gegenüber der Kontrollreihe (Abb. 24; Tabelle 8). Der Betamethasoneffekt ist auch bei Perfusionen ohne Zusätze feststellbar (54).

Abb.: 24

Pyruvataufnahme durch das Hinterkörperpräparat



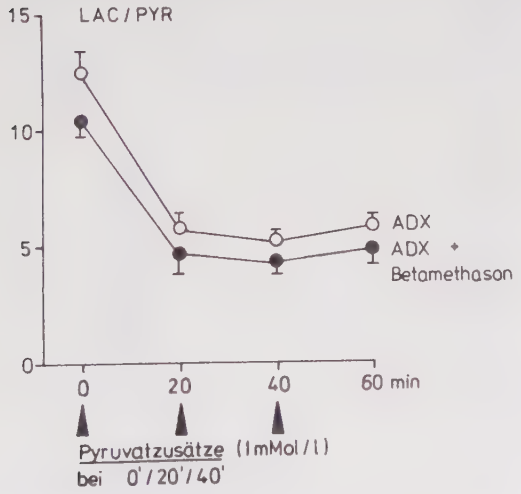
4.4.4.

Lactat/Pyruvat-Quotient

Zum Nullzeitpunkt der Perfusion beträgt der Quotient im Mittel 12,5. Die erste Erhöhung der Pyruvatkonzentration um 1 mMol/l führt zu einer Senkung des Wertes auf 5,2. Die folgenden Pyruvatgaben ändern den Quotienten nur unwesentlich, da die Pyruvataufnahme und Lactatfreisetzung korrelieren (Abb. 25).

Betamethasonvorbehandlung senkt den Wert schon nach den ersten 20 Perfusionsminuten geringfügig gegenüber der Kontrollreihe, was auf eine verminderte Lactatproduktion und Hemmung der Pyruvatextraktion in diesen Versuchen zurückgeführt werden kann (Tabelle 11).

Abb.: 25
Lactat/Pyruvat-Quotient im Perfusionsmedium



4.4.5.

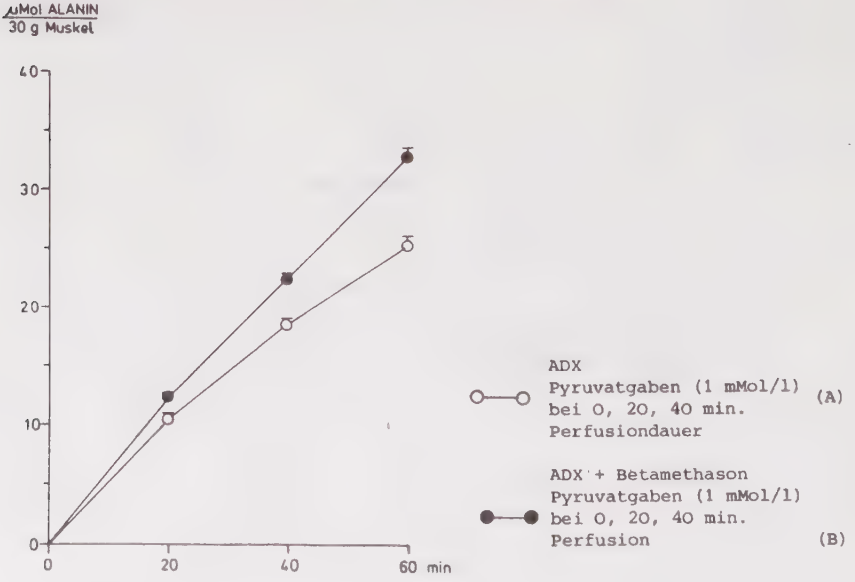
Alanin

Mit 25,27 µMol/h x 30 g Muskel setzt das Hinterkörperpräparat unter exogener Pyruvatbelastung annähernd gleiche Alaninmengen frei wie bei Perfusionen mit Lactatzusätzen (27,11 µMol/h x 30 g Muskel). Insgesamt ist die Menge des abgegebenen Alanins um 39 % gegenüber Versuchen mit Standardmedium gesteigert.

Die bei Versuchsgruppe I zu beobachtende Erhöhung der Alaninfreisetzungsrate durch Betamethason wird auch unter exogener Pyruvatbelastung sichtbar. Glucocorticoide steigern signifikant ($p < 0{,}001$) die Alaninabgabe gegenüber der Kontrollreihe (Abb. 26). Pyruvatzusätze haben also keinen Einfluß auf die basale Betamethasonwirkung, sie erhöhen jedoch wie Lactat das Alaninniveau, auf dem sich dieser Effekt aufbaut.

Abb.: 26

Alaninfreisetzung durch das Hinterkörperpräparat



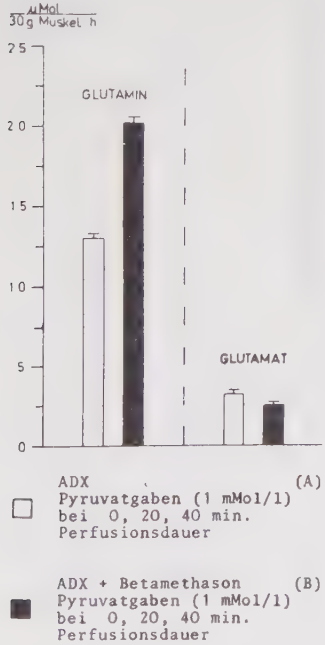
4.4.6.

Glutamin / Glutamat

Ähnlich wie Alanin wird auch die Glutamatfreisetzung durch exogene Pyruvatbelastung gesteigert: 7-fach gegenüber Perfusionen mit Standardmedium (ohne Zusätze).
Dagegen rufen die Pyruvatgaben eine Verminderung der Glutaminfreisetzung um 23 % gegenüber der Standardperfusion hervor. Die Hinterkörpermuskulatur setzt unter exogener Pyruvatbelastung fast gleiche Mengen an Glutamin und Glutamat frei wie in Versuchen mit Lactatzusätzen (Tabelle 8).

Glucocorticoidvorbehandlung bewirkt eine Steigerung der Glutaminproduktion um 55 % ($p < 0{,}001$), wobei gleichzeitig die Glutamatfreisetzung um 29 % vermindert wird (Abb. 27).

Abb.: 27
Glutamin- / Glutamatfreisetzung durch das Hinterkörperpräparat während einer Stunde Perfusion



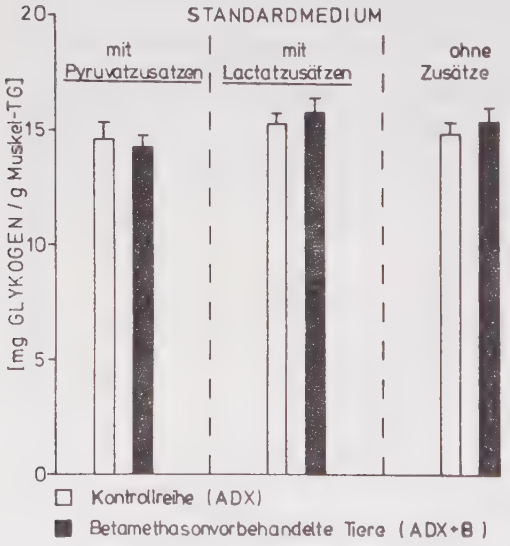
4.4.7.

Glykogen

Nach einer Stunde Perfusion war kein Unterschied im Glykogengehalt des M. gastrocnemius zwischen Tieren mit und ohne Betamethasonvorbehandlung feststellbar (Abb. 28). In beiden Versuchsreihen beträgt der Wert im Mittel 14,4 mg/g TG und zeigt keine signifikante Änderung gegenüber dem Glykogengehalt bei Perfusionen mit Lactatbelastung oder mit Standardmedium (Tabelle 9).

Abb.: 28

Glykogengehalt des Musculus gastrocnemius nach einer Stunde Perfusionsdauer

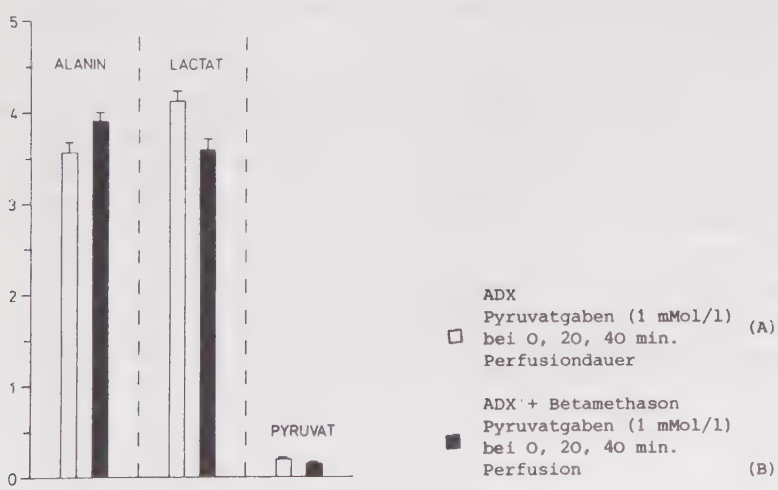


4.4.8.

Metabolite im Muskelgewebe

Lactat- und Pyruvatkonzentration verhalten sich ähnlich wie bei Perfusionen mit Lactatbelastung; nur die absoluten Werte zeigen Abweichungen (Vgl. Abb. 11, 29). So ist die Konzentration des Lactats um 16 % höher ($p < 0{,}005$), die des Pyruvats um 33 % niedriger ($p < 0{,}005$) als in den vergleichbaren Experimenten der Versuchsgruppe I (Tabelle 9).
Unter Pyruvatbelastung kommt es, ähnlich wie in Versuchsgruppe I, zu einer 12 %igen Steigerung der intrazellulären Alaninkonzentration gegenüber Perfusionen mit Standardmedium.
Nach Betamethasonvorbehandlung erhöht sich der Alaninspiegel in der Muskelzelle auf 3,92 µMol/ml Zellwasser gegenüber 3,57 µMol/ml Zellwasser bei der Kontrollreihe ($p < 0{,}05$).

Abb.: 29
Metabolitkonzentration im Muskelzellwasser nach einer Stunde Perfusion



4.5.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

4.5.1.

Einfluß erhöhter Lactatkonzentration im Blut auf den Stoffwechsel der Skelettmuskulatur

Bei Zuständen mit erhöhter Lactatkonzentration im Perfusionsmedium nimmt die Hinterkörpermuskulatur Lactat auf. Die Schwelle der Aufnahme liegt bei 4 µMol/ml Medium. Andererseits kommt es zu signifikant vermehrter Pyruvatfreisetzung.
Die Glucoseaufnahme ist unter diesen Bedingungen leicht gesteigert.
Alanin- und Glutamatabgabe an das Medium sind signifikant erhöht, die Glutaminfreisetzung dagegen leicht vermindert.

Der Glykogengehalt des M. gastrocnemius sowie der Sauerstoffverbrauch steigen nur leicht (nicht signifikant) an.

Die intrazelluläre Lactat-, Pyruvat- und Alaninkonzentrationen sind im Vergleich zu Kontrollversuchen erhöht.

4.5.2.

Einfluß erhöhter Pyruvatkonzentrationen im Blut auf den Stoffwechsel der Skelettmuskulatur

Ein vermehrtes Pyruvatangebot löst eine signifikante Steigerung der Pyruvataufnahme aus, die von einer erhöhten Lactatfreisetzung begleitet ist. Die Aufnahmeschwelle für Pyruvat liegt bei einer Blutkonzentration von 0,150-0,200 µMol/ml.
Die anderen gemessenen Stoffwechselparameter (Glucoseaufnahme, Glykogengehalt, Alanin-, Glutamin- und Glutamatfreisetzung u.a.) verhalten sich ähnlich wie in den Versuchen mit Lactatbelastung.

4.5.3.

Veränderungen durch einmalige Glucocorticoidgabe

Glucocorticoide setzen die Glucoseaufnahme der Muskulatur herab. Dieser Hormoneffekt ist unter Lactat- oder Pyruvatangebot etwas deutlicher ausgeprägt als in entsprechenden Kontrollversuchen (ohne diese Substratzusätze).

Bei Zuständen mit erhöhter Lactatkonzentration im Perfusionsmedium kommt es zu einer leichten Steigerung der Lactataufnahme und signifikanten Erhöhung der Pyruvatfreisetzung. Andererseits wird bei vermehrtem Pyruvatangebot eine signifikante Abnahme der Lactatfreisetzung und leichte Hemmung der Pyruvatextraktion beobachtet.

Alanin, Glutamin und Glutamat werden nach Betamethasonvorbehandlung vermehrt freigesetzt, der Lactat- bzw. Pyruvateffekt auf diese Aminosäuren bleibt jedoch auch unter Glucocorticoiden voll erhalten.
Es zeigt sich keine signifikante Änderung im Glykogengehalt des M. gastrocnemius, auch der O_2-Verbrauch bleibt unverändert.
Die intrazelluläre Alaninkonzentration ist erhöht, die intrazellulären Lactat- und Pyruvatspiegel sinken dagegen leicht ab.

4.5.4.

Veränderungen durch Insulinzusatz zum Medium

Insulin steigert zu etwa 100 % die Glucoseaufnahme. Diese Steigerung wird durch einmalige Betamethasonvorbehandlung nicht gehemmt, sondern um 32 % erhöht.

Die Lactatextraktion aus dem Medium nimmt leicht ab, die Pyruvatabgabe wird dagegen gesteigert. Der Insulineffekt auf die Lactatutilisation und Pyruvatfreisetzung wird durch Glucocorticoidvorbehandlung nicht verändert.

Die Alanin- und Glutamatfreisetzung sind signifikant ver-

mindert. Auf die Glutaminabgabe ist kein signifikanter Insulineinfluß feststellbar. Die betamethasonbedingte Steigerung der Alanin-, Glutamin- und Glutamatfreisetzung bleibt erhalten. Aufgrund der insulinbedingten Alaninabgabehemmung liegt die Freisetzungsrate des Alanins jedoch erheblich unter dem Wert der Kontrollversuche.

Der Glykogengehalt des M. gastrocnemius ist signifikant erhöht. Bei Versuchen mit Betamethasonvorbehandlung zeigt sich die Tendenz zu einer vermehrten Glykogensynthese, die möglicherweise auf das Lactatangebot zurückzuführen ist.

Der Sauerstoffverbrauch steigt signifikant an. Während die intrazelluläre Lactat- und Pyruvatkonzentration unverändert bleibt, steigt der intrazelluläre Alaninspiegel signifikant an (Hemmung der Alaninfreisetzung zugunsten einer intrazellulären Akkumulation).

5.
D I S K U S S I O N

5.1.
LACTATEINFLUß AUF DEN MUSKELSTOFFWECHSEL

Seit langem ist die Lactatbildung durch den arbeitenden Muskel bekannt. So führt beim Menschen eine submaximale bis maximale Arbeit zu einer kurzzeitigen Steigerung der arteriellen Lactatkonzentration auf 6-20 mMol/l, je nach Versuchsanordnung und Trainingszustand (49,136,140). Brooks und Mitarbeiter (113) fanden bei Ratten im Erschöpfungszustand einen Lactatspiegel von mehr als 6 mMol/l im arteriellen Blut und von etwa 20 µMol/g FG im Muskelgewebe. Unter Berücksichtigung dieser Angaben liegt die in den vorliegenden Versuchen vorgenommene Lactaterhöhung um 3 mMol/l bei 0, 20 und 40 Minuten Perfusionsdauer im physiologischen Bereich und entspricht einer Konzentration bei mittleren bis schweren Arbeitsleistungen.

Neben der Lactatproduktion (20,29,49,80,97,104) hat die Muskulatur, was weniger bekannt ist, auch für die Verstoffwechselung von Lactat erhebliche Bedeutung (23,103). So zeigten Keul und Mitarbeiter (120) in fahrradergometrischen Untersuchungen, daß das Arbeit leistende Bein Lactat freisetzte, während durch das ruhende Bein Lactat aus dem Blut extrahiert wurde. Aus anderen Untersuchungen, in denen unter Muskelarbeit ein Anstieg der intrazellulären Lactatkonzentration auch im ruhenden Muskel gemessen wurde, schlossen Karlsson und Mitarbeiter (140), daß die Skelettmuskulatur bei gesteigertem Angebot Lactat aufnimmt. Bestätigt wird diese Vermutung durch in vitro-Versuche von Thomaßen (55), der eine Lactataufnahme durch die ruhende Hinterkörpermuskulatur der Ratte beobachtete wenn die arterielle Lactatkonzentration 6 mMol/l betrug. Bei einem Spiegel von 4 mMol/l verhielt sich die Muskulatur indifferent und zeigte weder eine Netto-Aufnahme noch eine Abgabe.

Ähnliche Ergebnisse publizierten kürzlich McLane und Holloszy (137), die eine kontinuierliche Lactatextraktion durch den Rattenhinterkörper ab einer arteriellen Konzentration von 4 mMol/l beobachtet haben. Ausgehend von diesen Befunden stellte sich zunächst die Frage, ob Adrenalektomie die Lactatutilisation bzw. -verteilung durch die Skelettmuskulatur verändert.
In den vorliegenden Versuchen kommt es zu einer stetigen Lactataufnahme durch die Muskulatur der adrenalektomierten Ratten bei akuter Erhöhung des Lactatspiegels auf über 4 mMol/l (1,79 mMol/l Ausgangskonzentration + 3 mMol/l Zusatz bei 0 Minuten), die sich während der Perfusion unter zusätzlichen Gaben (3 mMol/l bei 20, 40 Minuten) fortsetzt. Dieser Befund stimmt weitgehend mit den Ergebnissen von nichtadrenalektomierten Ratten überein (55,137). Durch Adrenalektomie wird also das Lactataufnahmevermögen der Muskulatur nicht wesentlich verändert.

Die hohe Lactataufnahmerate während der einstündigen Perfusionen (rund 7,5 µMol/g Muskel) deutet schon darauf hin, daß die Skelettmuskulatur bei Zuständen mit erhöhtem Lactatspiegel dieses Substrat nicht ausschließlich akkumuliert, sondern in größerem Umfang in den Intermediärstoffwechsel einschleust.

5.1.1.

Schicksal des aufgenommenen Lactats

5.1.1.1.

Intrazelluläre Akkumulation

Die Lactatkonzentration im Muskel ist gegenüber den Werten bei Standardperfusionen (ohne Lactatzusätze) um 30 % erhöht. Trotz der Tatsache, daß das Lactatmolekül sich offenbar schnell über die Wasserkompartimente des Körpers verteilt, ist die Akkumulation jedoch nicht als einfache Gleichgewichtseinstellung zu betrachten.

Dafür spricht, daß der intrazelluläre Lactatspiegel (3,5 mMol/l) weit unter dem im Medium (7,5 mMol/l) zu diesem Zeitpunkt liegt. Für den am Ende der Perfusion gemessenen extra-/intrazellulären Lactatquotienten von 2 kann eine zu kurze Äquilibrierungszeit nicht verantwortlich gemacht werden.

Aufgrund unserer Berechnungen macht die intrazelluläre Lactatspeicherung nur etwa 6 % der aufgenommenen Lactatmenge aus. Der überwiegende Teil (94 %) muß also im Muskel metabolisiert worden sein. Voraussetzung für die Einschleusung in die Abbauwege ist die Umwandlung zu Pyruvat in der Lactatdehydrogenase(LDH)-Reaktion. Das hierfür notwendige Enzym ist in hoher Konzentration in der Skelettmuskulatur vorhanden (90).

5.1.1.2.

Pyruvatbildung aus Lactat

Lactatzusätze führen, im Gegensatz zu einem leichten Pyruvatverbrauch in Standardperfusionen (53), zu einer kontinuierlichen Pyruvatproduktion. Ihre Ursache ist wohl die Neueinstellung des Gleichgewichtes der LDH-Reaktion, die bei genügendem zytoplasmatischen NAD^+-Gehalt zu einer Pyruvatbildung durch Lactatdehydrierung führen muß. Der Anstieg der intrazellulären Pyruvatkonzentration im Muskel bestätigt diese Annahme. Begünstigt wird die Einstellung des LDH-Gleichgewichtes möglicherweise durch eine Produkthemmung, wie sie aus Untersuchungen am Menschen von Karlsson und Mitarbeitern (70) abgeleitet wurde; in diesen Untersuchungen führte eine Lactatkonzentration von 3 mMol/l zu einer etwa 50 %igen Verminderung der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit für die LDH-Hinreaktion (Pyruvat zu Lactat). Falls dieses auch für die Rattenmuskulatur zutrifft, würde sich die Lactataufnahme und Pyruvatproduktion durch die Aktivierung der LDH-Rückreaktion erklären, da der intrazelluläre Lactatspiegel in den vorlie-

genden Versuchen bei 3,55 mMol/l liegt. Die Neueinstellung des Gleichgewichtes erfolgt offenbar schnell, da der intrazelluläre Lactat/Pyruvat-Quotient trotz ständig anfallenden Lactats am Ende der Perfusion bei einem Wert von etwa 12 und damit im physiologischen Bereich liegt. Die Kapazität der LDH-Rückreaktion reicht also vollständig aus, um das aufgenommene Lactat zu Pyruvat umzuwandeln. Dieses steht in Übereinstimmung mit Ergebnissen der Untersuchungen von Baldwin und Mitarbeitern (141), die bei einer Lactatkonzentration von 10 mMol/l im arteriellen Rattenblut eine bis zu 90 %ige Umwandlung des extrahierten Lactats in Pyruvat durch die Skelettmuskulatur beobachtet haben.

Die Pyruvatfreisetzung und -akkumulation im Muskel machen jedoch nur etwa 8,5 % der gesamten Lactataufnahme aus. Das gebildete Pyruvat muß also bevorzugt in weitere Stoffwechselwege eingeschleust worden sein. Im wesentlichen kommen drei Stoffwechselwege in betracht:

1) Umwandlung zu Acetyl-CoA in der Pyruvatdehydrogenase-Reaktion und Oxidation im Citratzyklus zu CO_2 und H_2O
2) Umwandlung zu Alanin
3) Glucosebildung und Glykogensynthese

5.1.1.3.

Bedeutung des Oxidationsweges für die Lactateliminierung

Der erste Abbauweg des Pyruvats ist die oxidative Decarboxylierung durch die mitochondriale Pyruvatdehydrogenase mit nachfolgender Einschleusung in den Citratzyklus und Endoxidation zu CO_2 und H_2O. Die Pyruvatdehydrogenase ist ein interkonventierbarer Enzymkomplex dessen Aktivierung bzw. Inaktivierung durch eine Phosphatase bzw. Kinase reguliert wird. Der Pyruvatdehydrogenasekomplex unterliegt der Kontrolle durch zahlreiche Effektoren (ATP/ADP, Acetyl-CoA, NADH, Insulin, Ca^{++}, u.a.), deren Wirksamkeit in verschiedenen Versuchsreihen für Rattenherzmuskel (62,63,

107), -skelettmuskel (10,26,35), -leber (27,79) und -fettgewebe (7,108) nachgewiesen wurde.

In Leber und Herzmuskel zeigte sich eine Aktivitätssteigerung der PDH durch Erhöhung der Pyruvatkonzentration, was wahrscheinlich auf die Hemmung der PDH-Kinasereaktion zurückzuführen ist (66). Der maximale Effekt (etwa 80 % PDH in aktiver Form) ist in der Leberzelle bei einem Pyruvatgehalt von 2 mMol/l (79) und in der Herzmuskelzelle bei einer Konzentration von 1 mMol/l (107) zu beobachten. In den Hepatocyten liegt 50 % der PDH in aktiver Form vor, wenn der Pyruvatspiegel etwa 0,3-0,4 mMol/l beträgt (79). Falls diese Verhältnisse auch für die Skelettmuskulatur zutreffen, kann der in den vorliegenden Versuchen auf 0,304 mMol/l erhöhte intrazelluläre Pyruvatspiegel eine Aktivierung der PDH hervorrufen und damit einen beschleunigten oxidativen Pyruvatabbau ermöglichen. Dieser jedoch müßte zu einem vermehrten Sauerstoffverbrauch führen. In den dargestellten Versuchen bleibt dieser jedoch aus. Unter der Voraussetzung, daß Glucose zu einem unveränderten Prozentsatz oxidiert wird wie in Versuchen mit Standardmedium, könnte aus der Gesamtmenge des verbrauchten O_2 rein rechnerisch die Oxidation von etwa 23 % des aufgenommenen Lactats erklärt werden.

Omachi und Lifson berichten in ihrer Arbeit (139), daß der ruhende, isoliert perfundierte M. gastrocnemius des Hundes bei einer Blutlactatkonzentration von etwa 9 mMol/l annähernd 12-13 % des aufgenommenen Lactats oxidiert. Im Rahmen von Untersuchungen mit Arbeitsbelastung (136), bei der die arterielle Lactatkonzentration auf etwa 20 mMol/l anstieg, wurde das aufgenommene Lactat zu etwa 15 % auf dem Wege der Oxidation utilisiert. Dagegen beobachteten Brooks und Mitarbeiter (113) sowie Pearce und Connett (138) bei Versuchen mit radioaktiv markierten Lactat eine etwa 70 %ige Lactatoxidation in der Rattenmuskulatur in Zuständen mit erhöhtem Lactatspiegel (6 bzw. 8 mMol/l).

Interessant ist, daß in beiden Untersuchungen (113,138), trotz der erhöhten Lactatoxidation, der zu erwartende Anstieg der O_2-Aufnahme ausblieb; eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorliegenden Versuche. Pearce und Connett (138) erklären diesen Befund mit einer Umverteilung des Sauerstoffverbrauches. Aus ihren Untersuchungen, in denen es unter exogener Lactatbelastung mit 8 mMol/l zu einer intrazellulären Glucoseakkumulation kam, schlossen Pearce und Connett (138), daß Glucose zugunsten der Lactatoxidation eingespart wurde; dabei wiesen sie auf eine Korrelation zwischen Lactatkonzentration im Medium und Oxidation dieses Substrates hin. Bei einem durchschnittlichen arteriellen Lactatspiegel in unseren Versuchen von 4,65 mMol/l würde nach (138) etwa 50 % der Sauerstoffaufnahme für die Lactatoxidation verbraucht werden und somit einer Oxidation von annähernd 70 % des aufgenommenen Lactats entsprechen. Berücksichtigen muß man jedoch, daß der M. soleus der Ratte den Pearce und Connett (138) in ihren Versuchen verwendet haben, aus slow-twitch-Fasern besteht, die sehr hohe respiratorische Kapazität besitzen (90). Die Hinterkörpermuskulatur als Ganzes ist dagegen als ein gemischtes Muskelpräparat mit höheren Anteilen von fast-twitch-Fasern zu betrachten; dieser Umstand spricht dafür, daß hier die Lactatoxidation die hohen Werte von (138) nicht erreicht.

Insgesamt stellt aber wahrscheinlich die Lactatoxidation auch in den vorliegenden Versuchen den wichtigsten und physiologisch relevanten Utilisationsweg des Lactats dar.

5.1.1.4.

Stimulation der Alaninbildung durch Lactat

Ein zweiter Eliminationsweg des aus Lactat entstehenden Pyruvats ist die Alaninbildung. Diese erfolgt mit Hilfe von Glutamat in der Alaninaminotransferase (GPT)-Reaktion.

Eine de novo-Alaninbildung im Skelettmuskel erklärt sich aus

der Tatsache, daß die Freisetzungsrate von Alanin (es macht rund 25 % der gesamten Menge an abgegebenen Aminosäuren aus) immer mehrfach höher liegt als aus dem Alaningehalt im Muskelprotein (etwa 8 %) zu erwarten wäre.

Alanin ist nicht nur als wichtiges Substrat für die hepatische Glucosesynthese anzusehen, sondern hat daneben Wirkungen auf die Glucagonsekretion und möglicherweise auch (durch Pyruvatkinasehemmung) auf den Gluconeogenesefluß in der Leber (44,101).
Wegen der quantitativen Bedeutung im Rahmen der Glucoseneubildung stellt sich die Frage, ob das aus der Muskulatur freigesetzte Alanin einen Vorläufer für eine echte Nettogluconeogenese darstellt oder im Rahmen des von Felig (72) postulierten Glucose-Alanin-Zyklus als Faktor eines "Glucose recycling" anzusehen ist.

Auf diese Frage finden sich in der Literatur kontroverse Antworten (43,73,101,122): die Angaben über die Alaninbildung aus exogener Glucose auf den Glucose-Pyruvat-Alanin-Weg liegen zwischen 30 % und 95 % (47,73,114,119). Felig und Mitarbeiter (44,89) fordern eine strenge Korrelation zwischen Pyruvat- und Alaninspiegel und geben an, daß 15 - 20 % der aufgenommenen Glucose in Form des Alanins von der Muskulatur wieder abgegeben werden (44). Im Gegensatz dazu beschrieben Garber und Mitarbeiter (87b) für in vitro-Muskelinkubate keine strenge Abhängigkeit der Alaninfreisetzung vom Kohlenhydratstoffwechsel. Sie stellten mehr die Verfügbarkeit von Aminosäuren in den Vordergrund, durch deren Einschleusung in den Intermediärstoffwechsel des Muskels neben NH_2-Gruppen auch der Kohlenstoff (Pyruvatbildung aus Aminosäuren) für die Alaninsynthese bereitgestellt würde. Untersuchungen aus unserem Institut sprechen ebenfalls dafür, daß den Änderungen im Aminosäurenmetabolismus des Muskels unter normalen Bedingungen die größere Bedeutung für die Regulation der Alaninfreisetzung zukommt.

In den vorliegenden Versuchen führte das vermehrte Lactatangebot zu signifikant erhöhter Alaninfreisetzung gegenüber Perfusionen ohne Lactatzusätze (53). Im Gegensatz dazu ist bei den Normaltieren kein eindeutiger Effekt exogener Lactatangebote auf die Alaninbildung zu beobachten (55).
Möglicherweise liegt der Grund für diese Diskrepanz in einem Pyruvatmangel bei der adrenalektomierten Ratte. Dafür spricht, daß neben der verminderten Aminosäurenfreisetzung bei adrenalektomiertem Tier (12,30,43) auch eine Senkung des intrazellulären Pyruvatspiegels von 0,134 auf 0,070 mMol/l zu messen ist (55). Offenbar wird in den vorliegenden Versuchen das Pyruvatdefizit ausgeglichen und eine normale Alaninbildungsrate ermöglicht. Die Alaninsynthese des Muskels wäre damit die Resultante einer ausgewogenen Pyruvat- und Aminosäurenverfügbarkeit.

Damit würden Ergebnisse in Einklang stehen, die unter Dichloracetat, das die Pyruvatoxidation stimuliert, eine deutliche Hemmung der Alaninbildung belegen (50).

Es muß allerdings herausgestellt werden, daß das für Alaninmehrsynthese verwendete Pyruvat einen sehr geringen Anteil (nur 6 %) ausmacht im Vergleich zum Umfang der Lactataufnahme.
Die Bereitstellung von Glutamat, dem Reaktionspartner in der Alaninaminotransferasereaktion, wird durch seinen hohen Anteil an Muskelproteinen (etwa 12 %; 132) sowie durch die Synthese aus α-Ketoglutarat und Aminogruppen (vor allem von Aspartat, Valin, Leucin, Isoleucin) gesichert. Die entsprechenden Reaktionen werden katalysiert durch die Aspartataminotransferase (GOT), die hohe Aktivität im Muskel besitzt (39), und die "branched-chain amino acid Transaminase" (75).
Interessant in diesem Zusammenhang ist, daß etwa 46 % der gesteigerten Alaninfreisetzung (4,1 µMol von 8,9 µMol/h x 30 g Muskel) darauf beruhen, daß das Glutamat der Glutaminsynthetasereaktion entzogen wird: denn analog zum An-

stieg der Alaninabgabe wird die Glutaminfreisetzung vermindert. Es kommt also unter diesen Bedingungen hauptsächlich zu einer Aminogruppenverlagerung von Glutamin zu Alanin. Das weist darauf hin, daß dem Alanin neben der Vorläuferfunktion auch eine Bedeutung für die Eliminierung von Stickstoff (und damit für die Verhinderung der NH_3-Akkumulation) zukommt.

5.1.1.5.

Glykogensynthese aus Lactat

Der dritte Eliminationsweg des aus Lactat entstehenden Pyruvats kann die Glykogensynthese sein. Allgemein wird angenommen, daß im Muskel keine Gluconeogenese stattfindet. Verschiedene Untersuchungen der letzten Jahre ergaben jedoch, daß die dafür notwendigen Enzyme wie Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase, $NADP^+$-abhängige Malat-Dehydrogenase ("Malic-Enzym") und Fructose-1,6-diphosphatase in der Skelettmuskulatur der Säugetiere vorhanden sind, allerdings in viel geringerer Konzentration als in der Leberzelle (137). Eine Pyruvatcarboxylase scheint im Muskel zu fehlen. Die Enzymaktivitäten sind nach (90,137) in jedem Muskeltyp unterschiedlich und bei den fast-twitch-Fasern höher als bei den slow-twitch-Fasern. Das in den vorliegenden Versuchen verwendete Muskelpräparat ist, wie oben besprochen, ein "mixed-muscle" mit hohem Anteil an fast-twitch-Fasern. Prinzipiell sollte daher eine Glykogensynthese aus Lactat möglich sein.
Über die Glykogenbildung bei Zuständen mit erhöhter Blutlactatkonzentration und ihre physiologische Relevanz herrschen widersprüchliche Meinungen. Aus Isotopenversuchen von Brooks und Mitarbeitern (113) ist keine Netto-Glykogenbildung aus aufgenommenen Lactat abzuleiten. Auch bei Thomaßen (55) führte exogene Lactatbelastung (6 mMol/l) zu keinem signifikanten Anstieg im Glykogengehalt des M. gastrocnemius normaler Ratten. Moorthy und Gould (18) beobachteten dagegen eine Erhöhung des Glykogengehaltes im

M. soleus, die jedoch auf eine Stimulierung der Glykogensynthese aus Glucose bei Lactatkonzentrationen von 25 mMol/l zurückgeführt wurde. Das Lactat selbst wurde nicht als wichtiger Präkursor der Glykogensynthèse im Muskel angesehen, da trotz des sehr hohen Lactatangebotes die Glykogenneubildung aus Glucose ungefähr zehnmal schneller als aus Lactat verlief. Dieterle und Mitarbeiter (21) geben an, daß es bei einem Lactatspiegel von 11 mMol/l im Medium zu einem signifikanten ($p < 0,01$) Anstieg des Glykogens im Diaphragmamuskel der Ratte kommt. Nach neuesten Untersuchungen von McLane und Holloszy (137) sollen etwa 44 % des durch den Rattenhinterkörper extrahierten Lactats in Glykogen eingebaut werden. Hermansen und Vaage (136) nehmen aufgrund ihrer Untersuchungen am Menschen an, daß sogar etwa 75 % des aufgenommenen Lactats in die Glykogensynthese einmündet.

In unseren Versuchen wird der Glykogengehalt des M. gastrocnemius durch die Lactatzusätze zum Perfusionsmedium nicht signifikant erhöht.

Bei der Beurteilung der Glykogensynthese aus Lactat ist zunächst die Frage zu stellen, wieviel Mehrbildung aus dem extrahierten Lactat überhaupt erwartet werden kann. Ohne Berücksichtigung der wahrscheinlichen Lactatoxidation ergibt sich aus der Differenz zwischen Lactataufnahme und intrazellulärer Lactatakkumulation sowie Pyruvat- und Alaninmehrbildung ein Wert von 180 µMol Lactat/h x 30 g Muskel. Nach unseren Berechnungen kann der Glykogengehalt des M. gastrocnemius unter günstigen Bedingungen (100 %-Konversion des Lactats in Glykogen) nur um etwa 0,5 mg/g FG ansteigen. Angesichts der biologischen Streubreite und des normalen Analysenfehlers ist eine Steigerungsrate dieser Größenordnung sehr schwer signifikant abzusichern. So kann die regelmäßige, geringfügige aber nicht signifikante Erhöhung des Glykogengehaltes durch Lactatbelastung (etwa 0,2 mg/g FG) durch Synthese aus annähernd 80 µMol Lactat hervorgerufen worden sein und somit 35 % der aufgenommenen

Lactatmenge entsprechen.
Die Diskrepanz zu den Ergebnissen von (21,136,137) und die kontroverse Beurteilung der Bedeutung des Lactats für die Glykogenbildung im Muskel kann durch folgende Umstände bedingt sein:

1) durch Verwendung unterschiedlicher Lactatkonzentrationen

In den vorliegenden Versuchen liegt die Lactatkonzentration im mittleren physiologischen Bereich und steigt am Ende der Perfusion nicht über 8 mMol/l an. Dagegen erreicht der Lactatspiegel in Versuchen von (18,21,136, 137) 2 bis 4-fach höhere Werte (11 bis 25 mMol/l). Der im Vergleich dazu relativ niedrige Lactatspiegel in unseren Versuchen, sowie die kurze Perfusionsdauer in der eine Konzentration von über 6 mMol/l erreicht wurde (nähmlich in den letzten 20 Perfusionsminuten), reichen nicht aus, um einen Lactateffekt auf Glykogensynthese deutlich sichtbar zu machen

2) durch das vorhandensein relativ hoher Glucosekonzentration im Medium

McLane und Holloszy (137) beobachteten, daß durch Zusatz von 8,5 mMol Glucose/l zum Medium die Lactateinbaurate in Glykogen um 30 % reduziert wurde. Daraus ist abzuleiten, daß die Muskulatur bei genügendem Angebot von Glucose bevorzugt diese und nicht Lactat für die Glykogensynthese verwendet. Das trifft auch auf die vorliegenden Versuche zu, bei denen ein Medium mit 11 mMol Glucose/l benutzt wurde. Deswegen kann man annehmen, daß der Glykogenaufbau aus Lactat die Werte von McLane und Holloszy (137) nicht erreichen kann

3) durch den Muskulaturtyp

Conlee und Mitarbeiter (135) sowie McLane und Holloszy (137) beschreiben, daß verschiedene Muskelarten durch ihre unterschiedlichen Enzymmuster zu quantitativ ungleicher Lactatgluconeogenese fähig sind. So soll der

aus fast-twitch-white and red-Fasern bestehende M. plantaris sehr schnell größere Lactatmengen zu Glykogen umwandeln können, während der M. soleus (slow-twitch-Fasern) kaum eine Steigerung der Glykogensynthese durch Lactatbelastung zeigt. Das ist nach Angaben von McLane und Holloszy (137) sowohl auf das Fehlen der Fructose-1,6-diphosphatase als auch auf eine verminderte Aktivität von Glykogensynthetase I (135) im slow-twitch-red-Muskel zurückzuführen.

4) fehlende Aktivierung der Glykogensynthese in der ruhenden Muskulatur

Schließlich ist noch zu berücksichtigen, daß bei insulinfreier Perfusion unter Ruhebedingungen der Glykogenumsatz wahrscheinlich sehr gering ist; während der Organpräparation erfolgt kein wesentlicher Muskelglykogenabbau, der eine Aktivierung des Synthetasesystems hervorrufen würde. Auch aus diesen Überlegungen ist also ein Einbau von Lactatkohlenstoff unter den gewählten Versuchsbedingungen wahrscheinlich sehr gering.

Im übrigen scheint für die Glykogensynthese nach einer kurzzeitigen Arbeit vorwiegend die Blutglucose von Bedeutung zu sein (142). Die Glykogenresynthese aus Lactat spielt möglicherweise erst in Situationen nach schwerster Belastung, unter der es neben sehr hohen Lactatspiegeln im Blut auch zu einer erheblichen Abnahme der Glucoseverfügbarkeit (durch Hypoglykämie) kommt, eine Rolle. Diese Annahme muß in weiteren Versuchen, vorzugsweise nach akuter Erschöpfung der Muskulatur geklärt werden.

5.2.

GLUCOCORTICOIDWIRKUNGEN AUF DEN SKELETTMUSKELSTOFFWECHSEL UNTER LACTATBELASTUNG

5.2.1.

Einfluß auf Lactat-, Glucose- und Pyruvatutilisation

Nach Betamethasonvorbehandlung kommt es nicht zu einer Einschränkung der Lactataufnahme durch die ruhende Hinterkörpermuskulatur der Ratte. Die Lactatgluconeogenese im Glucose-Lactat-Zyklus wird also unter diesen Bedingungen nicht auf dem Wege einer erhöhten Substratverfügbarkeit gefördert.
Eine intrazelluläre Lactatakkumulation ist ebenfalls nicht zu beobachten. Nur etwa 4 % des aufgenommenen Lactats wird in der Muskelfaser gespeichert, was eine erhöhte Einschleusung dieses Substrates in den Intermediärstoffwechsel vermuten läßt.
Während die Lactatutilisation durch Glucocorticoide nicht verändert wird, haben diese Hormone einen deutlichen Effekt auf den Glucosemetabolismus. Betamethasonvorbehandlung ruft in den vorliegenden Versuchen eine signifikante Abnahme des Glucoseverbrauches durch die Skelettmuskulatur hervor. Dieser an verschiedenen Geweben, wie Fettzellen (3,38,96), Lymphozyten (8,14,93,96) und Haut (8,96), nachgewiesene Glucocorticoideffekt ist im Hinblick auf die Skelettmuskulatur bisher umstritten. Während manche Autoren (1,2,53,54) eine Verminderung der Glucoseutilisation in der Muskulatur beobachteten, ist von anderen keine Veränderung der Glucoseaufnahme durch Glucocorticoide beschrieben worden (38,48). Der Glucocorticoideffekt ist nach Munck (24,96) und Matsui und Mitarbeitern (81) auf eine Hemmung sowohl der Glucoseaufnahme als auch der Phosphorylierung zurückzuführen. Da die Abnahme der Glucoseutilisation erst nach einer Latenzzeit von 1-2 Stunden nach Glucocorticoidgabe deutlich auftritt

(5,38,54), ist für Thymocyten von Munck und Young (65) die Induktion eines den Glucosetransport hemmenden Proteinfaktors vermutet worden. Nach den Untersuchungen unseres Institutes (54), in denen Actinomycin-D-Vorbehandlung die glucocorticoidspezifischen Stoffwechseländerungen nicht zu unterdrücken vermochte, ist jedoch die Induktion eines carrierhemmenden Proteinfaktors unwahrscheinlich. Auch eine Hemmung der Glucoseaufnahme durch Glykolyseprodukte, im Sinne des von Randle und Mitarbeitern (123) postulierten Glucose-Fettsäuren-Zyklus, läßt sich weitgehend ausschließen, da die geringe Fettsäuren- und Glycerinfreisetzung aus dem Hinterkörperpräparat nach Betamethasongabe keinerlei Änderung zeigt (53,54).

Angesichts der ausgeprägten Glucoseaufnahmehemmung um 35 % würde eine Abnahme des Sauerstoffverbrauches zu erwarten sein. Dieser bleibt jedoch gegenüber den Kontrollreihen aus. Das läßt einen Ersatz der Glucose durch andere Metabolite vermuten. Möglicherweise sind hier die nach Betamethasonvorbehandlung vermehrt anfallenden Aminosäuren (12,43) von Bedeutung. Vorallem sind die verzweigtkettigen Aminosäuren (Valin, Leucin, Isoleucin) zu erwähnen, die im Muskel bevorzugt abgebaut werden (73,114). Ihre Oxidation ist im Hungerzustand, einer Situation mit ebenfalls verminderter Glucoseutilisationsrate, gesteigert (73).

Ob in den vorliegenden Versuchen auch eine gesteigerte Lactatoxidation eintritt, kann hier nicht sicher beantwortet werden. Unter Berücksichtigung des nicht durch Glucoseoxidation erklärbaren Sauerstoffverbrauches könnte rein rechnerisch etwa 50 % des aufgenommenen Lactats auf diesem Wege utilisiert worden sein: ein Prozentsatz, der eher niedriger liegt als in Kontrollversuchen ohne Betamethasonvorbehandlung.

Nach einmaliger Betamethasonapplikation kommt es neben der Glucoseaufnahmehemmung zu einer Verminderung des Lactat/Pyruvat-Quotienten. Dieser Quotient, der große Rückschlüsse auf die oxidativen Verhältnis-

se im Cytosol der Muskelfaser erlaubt ($NADH/NAD^+$), deutet auf eine Abnahme der Glykolyserate hin.

Trotz der Einschränkung der Glucoseutilisation ist die Pyruvatfreisetzung nach Betamethasongabe signifikant erhöht. Auch in Versuchen ohne Pyruvatzusätze zum Medium ist dieser Befund einer gesteigerten Pyruvatbildung festzustellen (25,53,54). Er spricht möglicherweise für eine Abnahme der muskulären Pyruvatoxidation durch Glucocorticoide, deren Größenordnung und physiologische Bedeutung jedoch hier nicht abzuschätzen ist.

Eine Hemmung der Pyruvatdehydrogenase könnte durch die im Vergleich zu Kontrollversuchen niedrige intrazelluläre Pyruvatkonzentration begünstigt werden (Tabelle 9).

Am Ganztier in vivo wird die von Jeanrenauld und Renold (9) sowie Landau (117) postulierte PDH-Hemmung nach Vorbehandlung mit Nebennierenrindehormonen vielleicht durch glucocorticoidbedingte positive Beeinflußung der Lipolyse (9) und Ketogenese (93) gefördert: die erhöhte Konzentration von Fettsäuren und Ketonkörpern (ß-Hydroxybutyrat, Acetoacetat) soll nähmlich über den Anstieg des intrazellulären Acetyl CoA/CoA-Quotienten zur Abnahme der PDH-Aktivität führen (7,31-33,35,62,63).

Zusammenfassend ist festzuhalten, daß die Einschränkung der Glucoseutilisation (wahrscheinlich durch Hemmung des Membrantransportes mit nachgeschalteter Verminderung der Glykolyse) ein Haupteffekt der Glucocorticoide ist. Dieser Hormoneffekt wird durch Lactatangebot nicht verändert. Auf nachgeschaltete Stoffwechselwege der Kohlenhydrate ist die Betamethasonwirkung weniger ausgeprägt: durch die Konzentrationserhöhung im Medium ausgelöste Lactatutilisation wird nicht entscheident modifiziert.

5.2.2.

Einfluß auf den Aminosäurenstoffwechsel

Auf die Bedeutung der Glucocorticoide für den Proteinmetabolismus peripherer Gewebe wiesen schon 1940 Long, Katzin und Fry hin. In Versuchen von Thienhaus und Mitarbeitern (12) wurde der antianabole Effekt dieser Hormone sehr deutlich: schon vier Stunden nach Betamethasongabe kommt es zu einer Steigerung der Freisetzung fast aller Aminosäuren aus der Skelettmuskulatur. Die bisherigen Befunde sprechen dafür, daß die akute Erhöhung der Aminosäurenabgabe an das Blut nach einmaliger Glucocorticoidapplikation durch eine Hemmung der Proteinsynthese bedingt ist (12-14,42,46,114). Sie wird möglicherweise durch einen direkten Einfluß auf die Ribosomenaktivität hervorgerufen. Diese Vermutung ist inzwischen durch Versuche von (110,115,118,122), in denen eine Verminderung der Polysomenbildung sowie eine Anreicherung von Ribosomenuntereinheiten nach Glucocorticoiden beschrieben wurde, gestützt worden. Die Hormonwirkung ist nicht nur auf die akut einsetzende Verminderung der Proteinsynthese beschränkt, sondern erstreckt sich auch auf eine Hemmung der Aminosäurenaufnahme in die Muskelfaser (42,57,58). Ein gesteigerter Proteinabbau tritt, besonders bei hoher Dosierung der Hormone, erst nach längerer Vorbehandlungszeit ein (46,105). Über die Regulation der an der Proteolyse beteiligten Enzyme ist jedoch noch wenig bekannt.
Die in den vorliegenden Versuchen zu beobachtende erhöhte Freisetzungsrate von Alanin und Glutamin ist, angesichts des geringen Anteils der beiden Aminosäuren an der Muskulatur (siehe Seite 2), wahrscheinlich überwiegend als de novo-Synthese und nicht allein als Ausdruck der herabgesetzten Reutilisation in der Proteinsynthese anzusehen.

5.2.2.1.

Alanin

Wie vorher bereits besprochen wurde, kann die Alaninbildung in der Muskulatur sowohl durch die Pyruvatverfügbarkeit als auch von der Konzentration an NH_2-Donatoren begrenzt werden. Die Aminogruppen für die nach Glucocorticoidgabe gesteigerte Synthese entstammen wahrscheinlich vorwiegend aus dem Abbau der verzweigtkettigen Aminosäuren, die (neben Glutamat selbst) durch die Proteinsynthesehemmung vermehrt zur Verfügung stehen. Die nach Transaminierung durch die "branched-chain amino acid Transaminase" entstehenden α-Ketosäuren können in der Muskulatur zu Citratzyklusintermediaten oder Acetyl-CoA umgewandelt und oxidiert (73) oder auch via PEP-Carboxykinase sowie $NADP^+$-abhängige Malatdehydrogenase ("malic enzym") in Pyruvat überführt werden.
Begünstigend auf die Alaninbildung nach Betamethasonvorbehandlung wirken auch die oben erwähnten Veränderungen des Pyruvatflusses. Trotz der verminderten Glucoseutilisation kann angenommen werden, daß die Pyruvatentstehung unter diesen Bedingungen den "oxidativen Verbrauch" übersteigt.

Auf die Bedeutung des Pyruvatüberschusses gingen kürzlich Pardrigde und Davidson (112) ein. In ihren Versuchen beobachteten sie keine Korrelation zwischen Alaninproduktion und Glucoseutilisation, dafür aber eine zwischen Alaninbildung und Pyruvatüberschuß bzw. veränderten Pyruvatfluß.

Die in den vorliegenden Versuchen erhöhte Alaninsynthese und -freisetzung ist also Folge sowohl einer gesteigerten Pyruvat- als auch der erhöhten Glutamat- bzw. Aminosäurenverfügbarkeit. Dabei scheint der durch Betamethason bewirkten Steigerung der intrazellulären Konzentration freier Aminosäuren größere Bedeutung zuzukommen. Das erhöhte Lactatangebot führt seinerseits zu einer weiteren Steigerung der Alaninsynthese.

5.2.2.2.

Glutamin

Durch Betamethasonvorbehandlung wird auch die Glutaminsynthese in der Skelettmuskulatur stimuliert. Im Gegensatz zu Alanin wird das Kohlenstoffskelett des Glutamins fast ausschließlich aus anderen Aminosäuren gebildet, vor allem aus Glutamat (45,73,83). Unter normalen Bedingungen wird das Glutamat nicht oder nur in geringen Mengen aus der Muskulatur freigesetzt (83). Die Glutaminsynthese aus Glutamat und Ammoniak wird durch die Glutaminsynthetase katalysiert (64). Da in den Kontrollversuchen unter erhöhtem Lactatangebot eine Verminderung der Glutaminbildung festgestellt wurde (als Folge eines vermehrten Glutamatverbrauches für die Alaninsynthese), ist die Steigerung der Glutaminfreisetzungsrate durch Betamethason also wahrscheinlich auf die Hemmung der Proteinsynthese sowie auf die gesteigerte Aminosäureneinschleusung in den Intermediärstoffwechsel zurückzuführen. Wie die Ergebnisse von Garber und Mitarbeitern (87b) zeigten, wird die Glutaminsynthese vorwiegend von der Verfügbarkeit von Ammoniumionen und der Bereitstellung von Glutamat limitiert.

Interessanterweise bleibt der hemmende Lactateffekt auf die Glutaminbildung auch unter Betamethason voll erhalten. So steigt zwar die Glutaminfreisetzungsrate insgesamt an, bleibt jedoch unter dem Wert der Perfusionen ohne Lactatzusätze (119).

5.2.2.3.

Glutamat

Trotz des vermehrten Glutamatverbrauches für die Alanin- und Glutaminsynthese kommt es unter Betamethason zu einer Steigerung der Glutamatfreisetzungsrate. Offenbar wird unter diesen Bedingungen Glutamat im Überschuß synthetisiert. Die vermehrte Glutamatbereitstellung kann ihrerseits eine

erhöhte Umsatzrate in der Alaninaminotransferase-Reaktion hervorrufen, was zu vermehrtem Pyruvatverbrauch führt. Möglicherweise sind die in dieser Versuchsgruppe erniedrigten intrazellulären Pyruvatkonzentrationen auf diesen Prozeß zurückzuführen.
Zusammenfassend kann festgehalten werden, daß die betamethasonbedingte Hemmung der Proteinsynthese und die dadurch vermehrte Aminosäurenbereitstellung zu den gesteigerten Freisetzungsraten von Alanin, Glutamin und Glutamat führen. Eine sich andeutende Einschränkung des oxidativen Pyruvatabbaus scheint dabei begünstigend zu wirken.

5.2.3.

Einfluß auf die Glykogenbildung

Trotz der verminderten Glucoseaufnahme kommt es zu einer leichten Steigerung im Glykogengehalt des M. gastrocnemius gegenüber der Kontrollreihe; dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant zu sichern. Eine hohe Umwandlungsrate von Lactat in Glykogen ist auch hier unwahrscheinlich. Es kann dagegen angenommen werden, daß durch eine verminderte Glykolyserate und Pyruvatoxidation die Glucoseverfügbarkeit für die Glykogensynthese (trotz der gehemmten Glucoseaufnahme) in etwa gleichem Umfang wie bei Kontrolltieren erhalten bleibt.

5.3.

INSULINWIRKUNGEN AUF DEN MUSKELSTOFFWECHSEL BEI ZUSTÄNDEN MIT ERHÖHTER LACTATKONZENTRATION

5.3.1.

Einfluß auf den Kohlenhydratstoffwechsel

Zusatz von 1 mU Insulin/ml zum Perfusionsmedium bewirkt eine Verdopplung der muskulären Glucoseaufnahme. Das korreliert mit Ergebnissen mehrerer Publikationen (12,40,51, 54), bei denen eine Erhöhung um den Faktor 2,5-3 festgestellt wurde. Ruderman und Mitarbeiter (19) sowie Berger und Mitarbeiter (68) fanden eine etwa 6-10 fache Steigerung der Glucoseextraktion, allerdings ausgehend von einer sehr geringen basalen Aufnahmerate und bei Insulinkonzentration von 10 bzw. 12,5 mU/ml. Das vermehrte Lactatangebot verändert den Insulineffekt auf die Glucoseaufnahme nicht, wie der Vergleich mit Perfusionen ohne Lactatzusätze zeigt (54).
Folgende Veränderungen im Muskelstoffwechsel unter diesen Bedingungen können direkt oder indirekt auf die gesteigerte Glucoseextraktion zurückgeführt werden:

1) verminderte Lactataufnahme und erhöhte Pyruvatfreisetzung

   Durch die gesteigerte Glykolyserate nach Insulingaben (121) kommt es einerseits zu einer stärkeren "endogenen" Pyruvatbildung zum anderen zu einem relativen Mangel an NAD^+, das somit vermindert für die Lactatdehydrierung zur Verfügung steht.

2) vermehrter O_2-Verbrauch

   Die Steigerung des Sauerstoffverbrauches in den vorliegenden Versuchen (im Mittel 12 %) fällt im Vergleich mit der erhöhten Glucoseaufnahme gering aus. Sie beruht wahrscheinlich auf die durch Insulin gesteigerte Glucoseoxidation. Nach Wieland und Mitarbeitern (7)

liegen bei einer Insulinkonzentration von 1 mU/ml fast 80 % des PDH-Komplexes in aktiver Form vor.

Gleichzeitig mit der gesteigerten Energiegewinnung aus Glucose kann die "O_2-intensive" Fettsäurenoxidation reduziert werden (74). Ein großer Teil der Glucose scheint aber in die Glykogensynthese einzumünden. Bei vollständiger Oxidation der unter Insulin vermehrt aufgenommenen Glucose müßte ein Sauerstoffmehrverbrauch um 113,9 % zu messen sein.

3) erhöhter Glykogengehalt des M. gastrocnemius

Insulin führt in Perfusionen mit erhöhter Lactatkonzentration zu vermehrter Glykogensynthese im Vergleich zu Perfusionen mit alleinigem Insulinzusatz (54). Dieser Effekt könnte einerseits auf eine gesteigerte Glucoseneubildung aus Lactat und Einbau in Glykogen und andererseits auf eine beschleunigte Glykogensynthese aus Glucose bei Zuständen mit erhöhtem Blutlactatspiegel zurückgeführt werden. Das würde bedeuten, daß es unter Insulin zu einer erhöhten Lactatoxidation kommt und dadurch zur Glucoseeinsparung; die eingesparte Glucose könnte dann als Glykogen abgelagert werden. Aus den Versuchen mit dem isolierten M. soleus der Ratte, schlossen Moorthy und Gould (18), daß Lactat die Glykogenneubildung aus Glucose stimuliert, selbst jedoch als Präkursor der Glykogensynthese bei Zuständen mit genügendem Glucoseangebot keine physiologische Relevanz besitzt. Dieser Lactateffekt auf den Glykogenaufbau scheint an die Anwesenheit von Insulin, das eine Steigerung der Glykogensynthetaseaktivität hervorruft (134), gebunden zu sein; denn in den Kontrollversuchen (ohne Insulin) war keine signifikante Änderung im Glykogengehalt des M. gastrocnemius durch Lactatzusätze feststellbar.

5.3.2.

Einfluß auf den Aminosäurenstoffwechsel

Über das Alaninverhalten nach Insulingaben herrschen kontroverse Meinungen. Während einige Autoren keine Hemmung der Alaninfreisetzung aus der Muskulatur festgestellt haben (44,84,87c), beobachteten andere eine insulinbedingte Verminderung der Alaninabgabe (12,47,54,74,121,122). Nach Angaben von Felig (84) hat Insulin nur einen hemmenden Einfluß auf die Freisetzung der verzweigtkettigen Aminosäuren (Valin, Leucin, Isoleucin), nicht jedoch auf die Höhe der Alaninabgabe.
Wie die vorliegenden Versuche zeigen, führt Insulin sowohl zu einer signifikanten Abnahme der Alanin- als auch der Glutamatfreisetzung. Die Glutaminabgabe bleibt unter diesen Bedingungen unbeeinflußt.
Unsere Ergebnisse stimmen mit den von Thienhaus und Mitarbeitern (12) sowie Jefferson und Mitarbeitern (122) überein, die eine Abnahme der Freisetzungsrate aller Aminosäuren unter Insulin beschrieben. Nach Jefferson und Mitarbeitern (122) ist der Insulineffekt auf Alanin, Glutamat, Prolin und Phenylalanin stärker ausgeprägt als auf andere Aminosäuren, darunter, wie in unseren Versuchen, Glutamin.
Die verminderte Alaninfreisetzung ist begleitet von einem Anstieg der intrazellulären Alaninkonzentration. Zum Teil ist dieser Befund durch einen verminderten Alaninefflux erklärbar. Während der Aminosäurentransportmechanismus von Insulin offenbar kurzfristig beeinflußt wird und dadurch Alanin in der Muskelfaser retiniert wird (erhöhte Aufnahme, verminderter Efflux), tritt wahrscheinlich die hormonbedingte Steigerung der Proteinsynthese erst nach einer gewissen "Anlaufzeit" ein.

Jefferson und Mitarbeiter (118) berichteten, daß in ihren Versuchen die Proteinsynthese erst 60-180 Minuten nach Insulinzusatz signifikant erhöht ist. Parallel zur ge-

steigerten Proteinsyntheserate sind zu diesem Zeitpunkt deutliche Änderungen der Ribosomenaktivität (vermehrte Polysomenbildung) feststellbar.
Wahrscheinlich ist auch die erhöhte intrazelluläre Alaninkonzentration in den vorliegenden Versuchen auf die genannten Insulineffekte (intrazellulärer "Alaninstau" vor Einsetzen der gesteigerten Proteinsynthese) zurückzuführen. Möglicherweise wird durch die vermehrte Pyruvatverfügbarkeit unter diesen Bedingungen zusätzlich die de novo-Alaninsynthese stimuliert. Zu diesem Ergebnis kam Grubb (47), die bei insgesamt verminderter Alaninabgabe einen erhöhten Kohlenstoffeinbau aus Glucose in Alanin festgestellt hat. Unter Insulin sollen nach Grubb (47) etwa 50 % des freigesetzten Alanins aus dem aus Glucose stammenden Pyruvat gebildet werden, während ohne Insulin nur annähernd 30 % des Alanins auf diesem Wege de novo synthetisiert werden soll.
Die Hinterkörpermuskulatur der Ratte setzt in den vorliegenden Versuchen etwa gleiche Alaninmengen frei wie in vergleichbaren Perfusionen ohne Lactatbelastung (54). Der Insulineffekt auf die Alaninfreisetzung wird also durch Lactatzusätze nicht verändert, möglicherweise Folge einer unter Basalbedingungen (Insulin und Standardmedium) schon optimalen Pyruvatverfügbarkeit.
Insgesamt führen Insulingaben in den vorliegenden Versuchen zur Steigerung der Glykogensynthese, Glykolyse und Pyruvatoxidation. Erhöhte Lactatkonzentrationen haben eine stimulierende Wirkung auf die Glykogensynthese, wahrscheinlich im Sinne eines beschleunigten Glucoseeinbaus in Glykogen. Das Lactatmolekül selbst scheint auch in diesen Versuchen für den Glykogenaufbau via Gluconeogenese von untergeordneter Bedeutung zu sein.

Wegen der kurzen Perfusionszeit sind die Insulineffekte auf den Aminosäurenstoffwechsel vorwiegend durch die Beeinflussung des Aminosäurentransports und durch die vermehrte Glucoseutilisation (erhöhte Pyruvatverfügbarkeit)

erklärbar. Die proteinanabole Wirkung des Insulins scheint noch nicht voll ausgeprägt zu sein. Die Lactatzusätze haben unter Insulin keinen Einfluß auf den Aminosäurenstoffwechsel.

5.4.

EINFLUß VON GLUCOCORTICOIDEN AUF DIE INSULINWIRKUNG

Die insulinbedingte Steigerung der Glucoseaufnahme wird durch einmalige Glucocorticoidgabe nicht gehemmt, was in Übereinstimmung mit Befunden am inkubierten M. soleus von Chaudry und Mitarbeitern (37) steht. In den vorliegenden Versuchen kommt es nach Betamethasonapplikation sogar zu einer signifikanten Erhöhung der Glucoseaufnahme im Vergleich zur Versuchsreihe mit alleinigem Insulinzusatz. Dieser Effekt, der mehr oder weniger ausgeprägt auch bei Versuchen ohne Lactatbelastung feststellbar ist (54), kann möglicherweise mit einer glucocorticoidbedingten Stimulation der Insulinsekretion während des in vivo-Vorbehandlungszeitraums erklärt werden. Durch Glucocorticoidgabe kommt es schon nach einer Latenzzeit von etwa 1,5 Stunden zum Anstieg des Blutzuckerspiegels, der vor Versuchsbeginn bei etwa 120-130 mg/100 ml liegt (ausgehend von einem Wert von 60-70 mg/100 ml). Dieser Anstieg hat eine Insulinausschüttung aus dem Pankreas zur Folge, wie von weiteren Autoren (15,34,56) bestätigt wurde. Nach Malaisse und Mitarbeitern (102) liegt die Insulinsekretionsschwelle der Ratte bei Konzentrationen von etwa 110 mg Glucose/100 ml; nach Überschreiten dieses Wertes erfolgt eine deutliche Steigerung der Insulinsekretion.

Sutter (52) stellte bei Versuchen an der Ratte fest, daß die lineare Funktion, die zwischen Blutglucose und Insulinspiegel bei normalen Tieren besteht, nach Adrenalektomie nicht mehr existiert; durch Behandlung der operierten Ratten mit Nebennierenrindehormonen wird sie wieder-

hergestellt. Er schließt daraus, daß NNR-Hormone im Serum vorhanden sein müssen, um eine normale Anpassung der Insulinausschüttung an Änderungen des Blutzuckerspiegels zu ermöglichen. So ist die niedrige Insulinkonzentration im Blut adrenalektomierter Tiere (52) nicht nur durch die erniedrigte Glucosekonzentration sondern offenbar auch durch das Fehlen der Glucocorticoide direkt bedingt.

Die durch Betamethasonvorbehandlung hervorgerufene Steigerung der Insulinausschüttung (nach Bergamini und Mitarbeitern (56) steigt die immunologisch meßbare Insulinkonzentration im Blut der adrenalektomierten Ratte 4,5 Stunden nach Hydrocortisongabe von 15 auf etwa 22,3 µU/100 ml an) führt möglicherweise zu einer "Prägung der Zellmembran", so daß eine Insulingabe zu diesem Zeitpunkt eine rascher einsetzende, insgesamt stärkere Wirkung auf die Glucoseaufnahme hat.
Die Insulinwirkung auf Lactataufnahme und Pyruvatfreisetzung wird durch Betamethasonvorbehandlung nicht verändert, wie der Vergleich mit Versuchen ohne Glucocorticoidgaben zeigt (Tabelle 8).
Der leicht erhöhte O_2-Verbrauch (um 18 %) ist wahrscheinlich ebenfalls Folge der vermehrten Glucoseutilisation.
Auch der leicht gesteigerte Glykogengehalt des M. gastrocnemius in diesen Versuchen kann, unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Kontrollreihe (kein Anstieg im Glykogengehalt nach Betamethasonvorbehandlung), aus der erhöhten Glucoseaufnahmerate abgeleitet werden.

Der Betamethasoneffekt auf die Erhöhung der Aminosäurenfreisetzung (Alanin, Glutamin, Glutamat) bleibt in den Insulinperfusionen erhalten. Die Steigerungsrate der Alaninfreisetzung (etwa 7-8 µMol/h x 30 g Muskel) zeigt keinen Unterschied zu der in den Kontrollreihen. Die Gesamtmenge der abgegebenen Aminosäuren (vor allem für Alanin und Glutamat) liegt jedoch signifikant niedriger als

in Perfusionen ohne Insulingabe.
Die starke Erhöhung des intrazellulären Alaninspiegels unter diesen Bedingungen (auf 5,2 mMol/l) kann als Ausdruck einer vermehrten Entstehung und Retention von Alanin gewertet werden (Hemmung der Proteinsynthese durch Betamethason bei gleichzeitiger Ausprägung der oben besprochenen Änderung des Aminosäurentransports durch Insulin).

Insulin hebt den Glucocorticoideffekt auf die Proteinsynthesehemmung offenbar nicht akut auf, wohl aber den durch Lactat bedingten Anstieg der Alaninsynthese. Ursache dafür ist wahrscheinlich eine erhöhte Lactatoxidation unter diesen Bedingungen.
Allgemein existiert die Ansicht, daß Insulin und Glucocorticoide einen antagonistischen Einfluß auf den Proteinstoffwechsel haben. Bestätigt wurde diese Annahme durch Versuche von Bullock und Mitarbeitern (115) sowie Jefferson und Mitarbeitern (122), in denen die Einflußnahme der beiden Hormone auf die Ribosomenaktivität untersucht wurde. Während Glucocorticoide den Polysomengehalt der Skelettmuskulatur vermindern (110,115), bewirkt Insulin eine Zunahme der Polysomen (118,122). Angriffspunkt beider Hormone könnte der Initiationsmechanismus der Proteinsynthese sein.

Werden Insulin und Betamethason unter exogener Lactatbelastung gleichzeitig verabreicht, wird einerseits kurzfristig der typische Insulineffekt, nähmlich Glucoseaufnahmesteigerung (und -utilisation) durch Betamethason nicht gehemmt, andererseits wird der glucocorticoidspezifische Effekt auf die Proteinsynthese durch Insulin nicht akut gehemmt. Beide Hormone brauchen offenbar für die Ausprägung der antagonistischen Effekte eine gewisse Anlaufzeit.

5.5.

PYRUVATEINFLUß AUF DEN MUSKELSTOFFWECHSEL

Pyruvatzusätze zum Perfusionsmedium führen, in Analogie zu den Verhältnissen beim Lactat, zu einer hohen Steigerung der Pyruvataufnahme.
Für die Einschleusung des Pyruvats in den Intermediärstoffwechsel der Muskulatur sind im wesentlichen folgende Wege zu diskutieren:

1) Umwandlung zu Lactat

Pyruvat wird in der LDH-Reaktion zu Lactat umgewandelt. Angesichts der hohen Konzentration des hierfür notwendigen Enzymes (LDH) in der Skelettmuskulatur ist zu erwarten, daß diese Reaktion vorwiegend durch das Substratangebot gesteuert wird (wie schon in den Perfusionen mit Lactatbelastung dargestellt wurde). Die Hinterkörpermuskulatur setzt in den vorliegenden Versuchen 121 % mehr Lactat frei als bei Versuchen ohne Pyruvatzusatz. Auch die intrazelluläre Lactatkonzentration ist signifikant erhöht. Rein rechnerisch kann diese gesteigerte Lactatproduktion etwa 62,2 % des aufgenommenen Pyruvats erklären.

2) Oxidation zu CO_2 und H_2O via Citratzyklus

Aufgrund der hohen Pyruvatutilisation durch die Muskulatur ist eine gesteigerte Oxidationsrate zu erwarten.

Der Sauerstoffverbrauch wird unter diesen Bedingungen, im Gegensatz zu Perfusionen mit Lactatbelastung, jedoch nicht erhöht, sondern sogar leicht gesenkt (von 851,2 µMol O_2/h x 30 g Muskel bei Versuchen ohne Pyruvatzusätze auf 728,3 µMol O_2/h x 30 g Muskel; nicht publizierte Ergebnisse). Möglicherweise kann dieser Effekt auf eine stärkere Hemmung der Fettsäurenoxidation zurückgeführt werden. Die intrazelluläre Lactatkonzentration ist in diesen Perfusionen auf 4,1 mMol/l erhöht, bei gleichzeitigem Anstieg des intrazellulären

Lactat/Pyruvat-Quotient auf 20. Nach kürzlich veröffentlichen Ergebnissen von Pearce und Connett (138) kann unter diesen Bedingungen eine Hemmung der Fettsäurenoxidation sowie Stimulation der Triglyceridsynthese resultieren.

3) Umwandlung zu Alanin

In Übereinstimmung mit den Lactat-Versuchsreihen führt das vermehrte Pyruvatangebot zur Erhöhung der Alaninfreisetzung und zur Steigerung der intrazellulären Konzentration. Die auf diesem Wege utilisierte Menge ist sehr gering und entspricht nur 6,7 % des aufgenommenen Pyruvats.

4) Glykogensynthese

In den vorliegenden Versuchen ist keine Steigerung des Glykogengehaltes im M. gastrocnemius, der auf einen Einbau von Pyruvatkohlenstoff schließen ließe, feststellbar.

Insgesamt ist die Umwandlung zu Lactat als der Hauptabbauweg des aufgenommenen Pyruvats anzusehen. Im Gegensatz zu Versuchen mit Lactatbelastung scheint die Pyruvatoxidation in diesen Perfusionen eine geringere Bedeutung zu haben. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß die Lactatzusätze insgesamt 9 mMol/l, die Pyruvatzusätze dagegen "nur" 3 mMol/l betrugen.
Die Alaninbildung wird in Analogie zu den Experimenten mit Lactatzusätzen durch das Pyruvatangebot gesteigert.

Betamethasonvorbehandlung führt ähnlich wie in Versuchsreihen mit Lactatbelastung zu einer ausgeprägten Hemmung der Glucoseaufnahme durch die Hinterkörpermuskulatur (etwa 30 %).
Die Pyruvataufnahme wird durch Glucocorticoidgabe insgesamt geringfügig, aber signifikant gehemmt. Gleichzeitig ist die Pyruvatkonzentration in der Muskelfaser ebenfalls signifikant erniedrigt. Dieser Befund könnte auf die beta-

methasonbedingte Hemmung der Glykolyse, die aufgrund des erniedrigten Lactat/Pyruvat-Quotienten in den vorliegenden Versuchen anzunehmen ist, zurückgeführt werden. Verminderte Glykolyserate senkt das Angebot an cytosolischen $NADH+H^+$ und somit auch den Umsatz in der LDH-Reaktion. Für diesen Mechanismus spricht die signifikant verminderte Lactatsynthese und -freisetzung, die auch in Versuchen ohne Pyruvatzusätze beobachtet wurde (16).

Betamethasonvorbehandlung steigert auch hier die Alanin-, Glutamin- und Glutamatfreisetzung. Die intrazelluläre Alaninkonzentration wird erhöht.

Der Glykogengehalt des M. gastrocnemius bleibt wie in Perfusionen mit Lactatzusätzen von der Betamethasonvorbehandlung unbeeinflußt.

6.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Am Perfusionsmodell des isoliert perfundierten Hinterkörpers adrenalektomierter Ratten wurden Stoffwechseländerungen der Skelettmuskulatur als Reaktion auf erhöhte exogene Lactat- und Pyruvatkonzentrationen untersucht.

Die Versuche führten zu folgenden Ergebnissen:

1) Erhöhte Blutkonzentrationen beider Substrate führen zur Utilisation durch die Skelettmuskulatur. Die Utilisationsraten von Lactat und Pyruvat werden durch Adrenalektomie nicht verändert. Die Schwelle der Lactataufnahme durch den Muskel liegt bei etwa 4 mMol/l, die für Pyruvat bei etwa 0,150-0,200 mMol/l. Der überwiegende Teil der aufgenommenen Substrate wird in den Intermediärstoffwechsel eingeschleust und nicht in der Muskelfaser akkumuliert.

2) Für den Lactatabbau scheint dabei die Oxidation, für die Pyruvatutilisation die Umwandlung zu Lactat von primärer Bedeutung zu sein.

3) Beide Substrate führen zu einer Steigerung der Alanin- und Glutamatsynthese bei gleichzeitiger Senkung der Glutaminfreisetzung. Dieser Befund steht im Gegensatz zu Versuchen mit Normaltieren, bei denen Lactat- und Pyruvatzusätze zu keiner deutlichen Erhöhung der Alaninfreisetzung führten. Ursache für die Diskrepanz ist wahrscheinlich die verminderte Pyruvatverfügbarkeit nach Adrenalektomie, welche durch die Substratangebote ausgeglichen wurde.

4) In insulinfreien Versuchen ist keine wesentliche Glykogenmehrsynthese durch Lactat oder Pyruvat auszulösen. Prinzipiell scheint die Glucoseneubildung aus beiden Substraten auch im Skelettmuskel möglich zu sein. In quantitativer Hinsicht ist jedoch, zumindest bei genügendem externen Glucosegehalt, die physiologische

Relevanz dieses Stoffwechselweges fraglich.

5) Die Glucoseaufnahme wird nach Betamethasonvorbehandlung der Ratten signifikant vermindert. Die Hemmung ist unter Lactat- bzw. Pyruvatangebot etwas stärker Ausgeprägt als in Versuchen ohne diese Zusätze.

6) Die Lactat- und Pyruvatutilisation wird durch einmalige Betamethasonapplikation nicht entscheidend beeinflußt.

7) Die gesteigerte Aminosäurenfreisetzung (Alanin, Glutamin, Glutamat) nach Betamethasonvorbehandlung wird durch Lactat- und Pyruvatangebot zusätzlich erhöht.

8) Die Alaninfreisetzung der adrenalektomierten Tiere ist sowohl durch glucocorticoidbedingte Proteinsynthesehemmung als auch durch die Substrate des Glucosestoffwechsels gleichermaßen zu steigern.

9) Die typischen Insulinwirkungen auf Glucoseaufnahme und Proteinstoffwechsel sind auch unter einem erhöhten Lactatangebot unverändert nachweisbar. Der Alaninefflux aus der Skelettmuskulatur wird unter Insulin herabgesetzt.

10) Insulin vermindert die Lactataufnahme durch die Muskulatur; dieser Befund muß jedoch im Verhältnis zur Verdopplung der Glucoseaufnahme gesehen werden.

11) Die insulinbedingte Glucoseaufnahmesteigerung wird durch Glucocorticoide nicht akut gehemmt, die durch Betamethasonvorbehandlung hervorgerufene Hemmung der Proteinsynthese wird durch Insulin kurzfristig nicht aufgehoben.

7.

D A N K S A G U N G

Herrn Professor Dr. Wolfgang Staib danke ich für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, sowie sein ständiges Interesse an den Experimenten.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. Martin Schwenen für die Einführung in das Arbeitsgebiet und seine freundliche Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Versuche. Seine wertvollen Anregungen waren mir bei der Niederschrift der Dissertation eine große Hilfe.

Bei Frau Grete Hannemann bedanke ich mich herzlich für Ihren gewissenhaften Einsatz, sowie Ihre stetige Hilfsbereitschaft.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen nicht genannten Personen die am zustandekommen der Arbeit beteiligt waren.

8.

L I T E R A T U R

1. Steele, R.: Influences of corticosteroids on protein and carbohydrate metabolism. Handbook of Physiology (Geiger, ed.) Sect. 7, Vol. 6: Adrenal Gland, Washington (1975), 135-165

2. Ramey, E.R.: Corticosteroids and skeletal muscle. Handbook of Physiology (Geiger, ed.), Sect. 7, Vol. 6: Adrenal Gland, Washington (1975), 245-261

3. Leung, K., A. Munck: Peripheral actions of glucocorticoids. Annu. Rev. Physiol. 37 (1975), 245-272

4. Exton, J.H.: Gluconeogenesis. Metabolism, Vol. 21: 10 (1972), 945-990

5. Thompson, E.B., M.E. Lippman: Mechanism of action of glucocorticoids. Metabolism, Vol. 23: 2 (1974), 159-202

6. Edelman, I.S.: Mechanism of action of steroid hormones. J. Steroid Biochem. Vol. 6 (1975), 147-159

7. Wieland, O.H., L. Weiss, G. Löffler, I. Brunner, S. Bard: On the mechanism of Insulin action on pyruvate dehydrogenase interconversion in adipose tissue. Metabolic Intervonversion of Enzymes, (Hrsg.: Fischer, E.H., Krebs, E.G., Neurath, H., Stadtman, E.R.) Springer Verlag (1973), 117-129

8. Eisenstein, A.: Effects of adrenal cortical hormones on carbohydrate, protein, and fat metabolism. Am.J. Clin. Nutr., Vol. 26 (1973), 113-120

9. Jeanrenaud, B., A.E. Renold: Metabolic effects of corticosteroid. Handbuch des Diabetes mellitus (Hrsg. E.F. Pfeiffer) J.F. Lehmanns Verlag (1969), 591-613

10. Hagg, S.A., S.I. Taylor, N.B. Ruderman: Glucose metabolism in perfused skeletal muscle; pyruvate dehydrogenase activity in starvation, diabetes and exercise. Biochem. J., Vol. 158 (1976), 203-210

11. Hübner, H.J.: Über den Mechanismus der Gluconeogenese nach oraler Cortisol-Gabe. Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem., Vol. 322 (1960), 135-141

12. Thienhaus, R., L. Tharandt, U. Zais, W. Staib: Einfluß von Glucocorticoiden auf die Freisetzung von Aminosäuren des perfundierten Hinterkörpers adrenalektomierter Ratten. Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem., Vol. 356 (1975), 811-817

13. Kröner, H., W. Staib: Zum Wirkungsmechanismus der Nebennierenrindenhormone. Hippokrates, 18 (1967), 709-714

14. Drews, J.: Klinische und biochemische Wirkungen der Glukokortikoide, dargestellt am Beispiel des Cushing-Syndroms. Med. Klin., Vol. 17 (1969), 773-780

15. Meiers, H.G., W. Beien, T. Dieterich, W. Staib: Untersuchungen zur gluconeogenetischen Wirkung von Cortisol. Acta Endocrinol., Vol. 60 (1969), 4-12

16. Kröner, H., W. Staib: Cortisolwirkungen auf den Protein- und Energiestoffwechsel in der Peripherie. Acta Endocrinol., Vol. 59 (1968), 193-202

17. Rudorff, K.H., H. Kröner, R. Windeck, W. Staib: Über den Einfluß von Insulin und Betamethason auf die Gluconeogenese aus Alanin und Pyruvat in der isoliert perfundierten Leber adrenalektomierter Ratten. Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem., Vol. 351 (1970), 1064-1070

18. Moorthy, K.A., M.K. Gould: Synthesis of glycogen from glucose and lactat in isolated rat soleus muscle. Arch. Biochem. Biophys., Vol. 130 (1969), 399-407

19. Ruderman, N.B., C.R.S. Houghton, R. Hems: Evaluation of the isolated perfused rat hindquarter for the study of muscle metabolism. Biochem. J., Vol. 124 (1971), 639-651

20. Hirche, Hj., U. Bovenkamp, J. Busse, B. Hombach, J. Manthey: Factors influencing lactic acid production in working skeletal muscle. Lab. Invest., suppl. 128, Vol. 31 (1973), 11-15

21. Dieterle, P., P. Banholzer, R. Dieterle, J. Henner, K. Schwarz: The influence of lactate on muscle metabolism; Lactate as a possible regulating factor for the increased enegry supply during muscular work. Horm. Metab. Res., Vol. 3 (1971), 340-344

22. Weil, R., Peh-Ping Ho, N. Altszuler: Effect of free fatty acids on metabolism of pyruvic and lactic acids. Am. J. Physiol., Vol. 208(5) (1965), 887-891

23. Dunn, R.B., J.B. Critz: Uptake of lactate by dog skeletal muscle in vivo and the effect of free fatty acids. Am. J. Physiol., Vol. 229(2) (1975), 255-259

24. Munck, A.: Metabolic site and time course of cortisol action on glucose uptake, lactic acid output, and glucose 6-phosphate levels of rat thymus cells in vitro. J. Biol Chem., Vol. 243 (1968), 1039-1042

25. Kerppola, W.: Accumulation of pyruvie acid in the blood during treatment with cortisone or ACTH, and in Cushing's syndrome. Acta Med. Scand., Vol. 145 (1953), 357-360

26. Hennig, G., G. Löffler, O.H. Wieland: Active and inactive forms of pyruvatdehydrogenase in skeletal muscle as related of the metabolic and functional state of the muscle cell. Febs Lett., Vol. 59 (1975), 142-145

27. Siess, E.A., O.H. Wieland: Regulation of pyruvate dehydrogenase interconversion in isolated hepatocytes by the mitochondrial ATP/ADP ratio. Febs Lett., Vol. 52 (1975), 226-230

28. Dunn, A., M. Chenoweth, L.D. Schaeffer: Effect of adrenalectomy on glucose turnover, the cori cycle, and gluconeogenesis from alanine. Biochem. et Biophys. Acta, Vol. 177 (1969), 11-16

29. Kaijser, L.: Lactate production and maximal muscle respiration. Lab. Invest., suppl. 128, Vol. 31 (1973), 17-20

30. Daniel, P.M., O.E. Pratt, E. Spargo: The effect of adrenalectomy on the movement of amino acids between the skeletal muscules and the blood. J. Physiol., Vol. 278 (1978), 28-29

31. Reinauer, H.: Regulation of the pyruvate dehydrogenase complex in mammary of the rat. Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem., Vol. 355 (1974), 1241

32. Reinauer, H., E.R. Müller-Ruchholz: Regulation of the pyruvate dehydrogenase complex in perfused hearts of guinea pigs. Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem., Vol. 355 (1974), 1241-1242

33. Berger, M.: Untersuchungen zur Regulation des Glucosestoffwechsels der Skelettmuskulatur. (1975), Universität Düsseldorf

34. Herrmann, J., W. Staib: Beziehung zwischen Lipolyse, Gluconeogenese und Insulinsekretion nach Cortisolgabe an Ratten. Eur. J. Biochem., Vol. 7 (1969), 427-433

35. Ruderman, N.B., M.N. Goodman, M. Berger, S. Hagg: Effect of starvation on muscle glucose metabolism: studies with the isolated perfused rat hindquarter. Fed. Proc., Vol. 36 (1977), 171-176

36. Kendysh, I.N., B.B. Moroz: Role of different precursors in the synthesis of liver glycogen during cortisol administration. Acta Endocrinol., Vol. 71 (1972), 365-373

37. Chaudry, I.H., N.S. Adzick, M.M. Sayeed, A.E. Baue: Effects of hydrocortisone and dexamethasone on xylose uptake by isolated rat soleus muscle. Biochim. et Biophys. Acta, Vol. 399 (1975), 85-89

38. Munck, A., S.B. Koritz: Studies on the mode of action of glucocorticoids in rats; I. Early effects of cortisol on blood glucose and on glucose entry into muscle, liver and adipose tissue. Biochim. et Biophys. Acta, Vol. 57 (1962), 310-317

39. Ruderman, N.B., P. Lund: Amino acid metabolism in skeletal muscle; Regulation of glutamine and alanine release in the perfused rat hindquarter. Isr. J. Med. Sci., Vol. 8 (1972), 295-302

40. Dietze, G., M. Wicklmayr, I. Böttger, L. Mayer: Insulin action on glucose uptake into skeletal muscle; Inhibition of endogenous biosynthesis of prostaglandins. Febs Lett., Vol. 92 (1978), 294-298

41. Dieterle, P., C. Dieterle, P. Bottermann, K. Schwarz, J. Henner: In vitro Versuche zur antilipolytischen Wirkung von Milchsäure. Diabetologia, Vol. 5 (1969), 238

42. Hanoune, J., A.M. Chambaut, A. Josipowicz: The glucose effect and cortisone action upon rat liver and muscle protein metabolism. Arch. Biochem. Biophys., Vol. 148 (1972), 180-184

43. Caldwell, M.D., W.W. Lacy, J.H. Exton: Effects of adrenalectomy on the amino acid and glucose metabolism of perfused rat hindlimbs. J. Biol. Chem., Vol. 253 (1978), 6837-6844

44. Felig, P., J. Wahren: Protein turnover and amino acid metabolism in the regulation of gluconeogenesis. Fed. Proc., Vol. 33 (1974), 1092-1097

45. Ruderman, N.B., M. Berger: the formation of glutamine and alanine in skeletal muscle. J. Biol. Chem., Vol. 249 (1974), 5500-5506

46. Goldberg, A.L.: Protein turnover in skeletal muscle; II. Effects of denervation and cortisone on protein catabolism in skeletal muscle. J. Biol. Chem., Vol. 244 (1969), 3223-3229

47. Grubb, P.: De novo synthesis of alanine by the perfused rat hindlimb. Am. J. Physiol., Vol. 239 (1976), 1379-1384

48. Long, C.N.H., O.K. Smith, E.G. Fry: Actions of cortisol compounds on carbohydrate and protein metabolism. Ciba Foundation Study Group 6, (1960), 4-18

49. Hermansen, L., I. Stensvold: Production and removal of lactate during exercise in man. Acta Physiol. Scand., Vol. 86 (1972), 191-201

50. Goodman, M.N., N.B. Ruderman, T.T. Aoki: Glucose and amino acid metabolism in perfused skeletal muscle; Effect of dichloroacetate. Diabetes, Vol. 27 (1978), 1065-1074

51. Strohfeldt, P., H. Kettl, K.F. Weinges: Perfusion of the isolated rat hindlimb with a synthetic medium. Horm. Metab. Res., Vol. 6 (1974), 167-168

52. Sutter, B.C.J.: Surrénale et insulinénie chez le rat. Diabetologia, Vol. 4 (1968), 286-294

53. Kühn-Velten, N.: Regulationsmechanismen am insulinfrei perfundierten Hinterkörper der Ratte. Diss. med. Universität Düsseldorf, (1977)

54. Staschok, W.: Zeitliche Entwicklung, Insulin- und Acetinomycin-D-Beeinflussung der akuten Glucocorticoidwirkungen am isoliert perfundierten Hinterkörper adrenalektomierter Ratten. Diss. med. Universität Düsseldorf, (1978)

55. Thomaßen, P.: Bedeutung der Skelettmuskulatur für die Homöostase des Blutlactatspiegels. Diss. med. Universität Düsseldorf (in Vorbereitung)

56. Bergamini, E., C. Gagliardi, C. Pellegrino: Dependence on insulin of the hydrocortisone effect on muscle glycogen content. Febs Lett., Vol. 4 (1969), 1-3

57. Kostyo, I.L., A.F. Redmond: Role of protein synthesis in the inhibitory action of adrenal steroid hormones on amino acid transport by muscle. Endocrinology, Vol. 79 (1966), 531-540

58. Kostyo, I.L.: In vitro effects of adrenal steroid hormones on amino acid transport in muscle. Endocrinology, Vol. 76 (1965), 604-613

59. Britton, G.W., S. Rotenberg, R.C. Adelman: Impaired regulation of corticosterone levels during fasting in aging rats. Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol. 64 (1975), 184-188

60. Foster, J.L., J.B. Blair: Acute hormonal control of pyruvate kinase and lactat formation in the isolated rat hepatocyte. Arch. Biochem. Biophys., Vol. 189 (1978), 263-276

61. Reilly, P.E.B., E.J.H. Ford: The effect of betamethasone on glucose utilization and oxidation by sheep. J. Endorinol., Vol. 49 (1971), 19-27

62. Olson, M.S., S.C. Dennis, M.S. DeBuysere, A. Padma: The regulation of pyruvate dehydrogenese in the isolated perfused rat heart. J. Biol. Chem., Vol. 253 (1978), 7369-7375

63. Dennis, S.C., A. Padma, M.S. DeBuysere, M.S. Olson: Studies on the regulation of pyruvate dehydrogenase in the isolated rat heart. J. Biol. Chem., Vol. 254 (1979), 1252-1258

64. Iqbal, K., J.H. Ottaway: Glutamine synthetase in muscle and kidney. Biochem. J., Vol. 119 (1970), 145-156

65. Munck, A., D.A. Young: Corticosteroids and lymphoid tissue. Handbook of Physiology (Geiger, ed.) Sect. 7, Vol. 6: Adrenal Gland, Washington (1975), 231-243

66. Kerbey, A.L., P.J. Randle, R.H. Cooper, S. Whitehouse, H.T. Pask, R.M. Denton: Regulation of pyruvate dehydrogenase in rat heart. Biochem. J. Vol., Vol. 154 (1976), 327-348

67. Sols, A.: Regulation of liver glucokinase and muscle hexokinase. On the nature and treatment of diabetes, (Ed.: B.S. Leibel, G.A. Wrenshall) Excerpta Medica Foundation, (1965), 118-128

68. Berger, M., S. Hagg, N.B. Ruderman: Interaction of insulin and exercise on glucose uptake. Biochem. J., Vol. 146 (1975), 231-238

69. Berger, M., S.A. Hagg, M.N. Goodman, N.B. Ruderman: Effects of starvation, diabetes, fatty acids, acetoacetate, insulin and exercise on glucose uptake and disposition. Biochem. J., Vol. 158 (1976), 191-202

70. Karlsson, J., B. Hultén, B. Sjödin: Substrate activation and product inhibition of LDH activity in human skeletal muscle. Acta Physiol. Scand., Vol. 92 (1974), 21-26

71. Scrutton, M.C.: Fine control of the conversion of pyruvate (phosphoenolpyruvate) to oxaloacetate in various species. Febs Lett., Vol. 89 (1978), 1-9

72. Felig, P.: The glucose-alanine cycle. Metabolism., Vol. 22 (1973), 179-207

73. Goldberg, A.L., Tse Wen Chang: Regulation and significance of amino acid metabolism in skeletal muscle. Fed. Proc., Vol. 37 (1978), 2301-2307

74. Reimer, F., G. Löffler, G. Hennig, O.H. Wieland: The influence of insulin on glucose and fatty acid metabolism in the isolated perfused rat hindquarter. Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem., Vol. 356 (1975), 1055-1066

75. Ichihara, A.: Cellular differentiation and isoenzyme of branched-chain amino acid transaminase. Enzyme, Vol. 15 (1973), 210-223

76. Olefsky, J.M., J. Johnson, F. Liu, P. Jen, G.M. Reaven: The effects of acute and chronic dexametasone administration on insulin binding to isolated rat hepatocytes and adipocytes. Metabolism, Vol. 24 (1975), 517-527

77. Mayer, M., N. Kaiser, R.J. Milholland, F. Rosen: The binding of dexamethasone and triamcinolone acetonide to glucocorticoid receptors in rat skeletal muscle. J. Biol. Chem., Vol. 249 (1974), 5236-5240

78. Mayer, M., F. Rosen: Glucocorticoid receptors in skeletal muscle. Isr. J. Med. Sci., Vol. 11 (1975), 699-707

79. Portenhauser, R., O. Wieland: Regulation of pyruvate dehydrogenase in mitochondria of rat liver. Eur. J. Biochem., Vol. 31 (1972), 308-314

80. Hirche, Hj., V. Hombach, H.D. Langohr, U. Wacker, J. Busse: Lactic acid permeation rate in working gastrocnemii of dogs during metabolic alkalosis and acidosis. Pflügers Arch., Vol. 356 (1975), 209-222

81. Matsui, N., J.E. Plager: "Anti-insulin" action of cortisol. 1. influence of cortisol on the metabolism of specifically labeled glucose, pyruvate and glucose-6-phosphate. Endocrinology, Vol. 84 (1969), 1439-1449

82. Boyd, A.E., S.R. Giamber, M. Mager, H.E. Lebovitz: Lactate inhibition of lipolysis in exercising man. Metabolism, Vol. 23 (1974), 531-542

83. Ruderman, N.B.: Muscle amino acid metabolism and gluconeogenesis. Ann. Rev. Med., Vol. 26 (1975), 245-257

84. Felig, P.: Interaction of insulin and amino acid metabolism in the regulation of gluconeogenesis. Isr. J. Med. Sci., Vol. 8 (1972), 262-270

85. Altszuler, N., A. Morrison, B. Gottlieb, C. Bjerknes, I. Ratheb, R. Steele: Alteration by fasting of the effects of methylprednisolone on carbohydrate metabolism in the normal dog. Metabolism, Vol. 23 (1974), 369-374

86. Shoji, S., R.J.T. Pennington: Binding of dexamethasone and cortisol to cytosol receptors in rat extensor digitorum longus and soleus muscles. Exp. Neurol., Vol. 57 (1977), 342-348

87. Garber, J.A., I.E. Karl, D.M. Kipnis: Alanine and glutamine synthesis and release from skeletal muscle;

a) Glycolysis and amino acid release
b) The precursor role of amino acid in alanine and glutamine synthesis
c) Dietary and hormonal regulation

J. Biol. Chem., Vol. 251 (1976), 826-850

88. Mac Donald, M., N. Neufeldt, B.N. Park, M. Berger, N. Ruderman: Alanine metabolism and gluconeogenesis in the rat. Am. J. Physiol., Vol. 231 (1976), 619-625

89. Felig, P., J. Wahren: Amino acid metabolism in exercising man. J. Clin. Invest., Vol. 50 (1971), 2703-2714

90. Holloszy, J.O., F.W. Booth: Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. Ann. Rev. Physiol., Vol. 38 (1976), 273-291

91. Schwenen, M.: Glykoneogenese aus extrahepatischen Substraten: Cortisolwirkungen auf den Stoffwechsel der isoliert perfundierten Rattenleber. Diss. med. Universität Düsseldorf (1970)

92. Schwenen, M.: Skelettmuskulatur und metabolische Homöostase; Modelluntersuchungen zu substrat-, belastungs- und glucocorticoidabhängigen Formen der Stoffwechselanpassung am isoliert perfundie-

rten Hinterkörper der Ratte. Institut für Physiologische Chemie II der Universität Düsseldorf (1977)

93. Owen O.E., F.G. Cahill: Metabolic effects of exogenous glucocorticoids in fasted man. J. Clin. Invest., Vol. 52 (1973), 2596-2605

94. Chowers, I., R. Einat, S. Feldman: Effects of starvation on levels of corticotrophin releasing factor; Corticotrophin and plasma corticosterone in rats. Acta Endocrinol., Vol. 61 (1969), 687-694

95. Lecocq, F.R., D. Mebane, L.L. Madison: The acute effect of hydrocortisone on hepatic glucose output and peripheral glucose utilisation. J. Clin. Invest., Vol. 43 (1964), 237-246

96. Munck, A.: Glucocorticoid inhibition of glucose uptake by peripheral tissues: Old and new evidence, molecular mechanisms, and physiological significance. Perspectives Biol. Med. Vol. 14 (1971), 265-289

97. Graham, T.E., D.G. Sinclair, C.K. Chapler: Metabolic intermediates and lactate diffusion in active dog skeletal muscle. Am. J. Physiol., Vol. 231 (1976), 766-771

98. Rous, S.: Effect of insulin on incorporation of ^{14}C-labeled pyruvates and bicarbonate into blood glucose of fasted mice. Am. J. Physiol., Vol. 235 (1978), E22-E26

99. Reichard, G.A., N.F. Moury, N.J. Hochella, A.L. Patterson, S. Weinhouse: Quantitative estimation of Cori cycle in the human. J. Biol. Chem., Vol. 238 (1963), 495-501

100. Schoner, W., U. Haag, W. Seubert: Regulation of carbohydrate metabolism by cortisol independent of the de novo synthesis of enzymes in rat liver. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., Vol. 351 (1970), 1071-1088

101. Friedrichs, D., W. Schoner: Regulation of gluconeogenesis by alanine. Biochim. Biophys. Acta, Vol. 343 (1974), 341-355

102. Malaisse, W., F. Malaisse-Lagae, P.H. Wright: A new method for the measurement in vitro of pancreatic insulin secretion. Endocrinology, Vol. 80 (1967), 99-108

103. Mc Grail, J.C., A. Bonen, A.N. Belcastro: Dependence of lactate removal on muscle metabolism in man. Euro. J. Appl. Physiol. Vol. 39 (1978), 89-97

104. Jorfeldt, L., A. Juhlin-Dannfelt, J. Karlsson: Lactate release in relation to tissue lactate in human skeletal muscle during exercise. J. Appl. Physiol., Vol. 44 (1978), 350-352

105. Tomas, F.M., H.N. Munro, V.R. Young: Effect of glucocorticoid administration on the rat of muscle protein breakdown in vivo in rats, as measured by urinary excretion of N-Methylhistidine. Biochem. J., Vol. 178 (1979), 139-146

106. Pi-Sunyer, F.X., J.M. Conway, M. Lavau, R.G. Campbell, A.B. Eisenstein: Glucagon, insulin, and gluconeogenesis in fasted odd carbon fatty acid-enriched rats, Am. J. Physiol., Vol. 231 (1976), 366-369

107. Hutson, N.J., A.L. Kerby, P.J. Randle, P.H. Sugden: Conversion of inactive (phosphorylated) pyruvate dehydrogenase complex into active complex by the phosphate reaction in heart mitochondria is inhibited by alloxan-diabetes or starvation in the rat. Biochem. J., Vol. 173 (1978), 669-680

108. Smith, S.J., E.D. Saggerson: Regulation of pyruvate dehydrogenase activity in rat epididymal fat-pads and isolated adipocytes by adrenaline. Biochem. J., Vol. 174 (1978), 119-130

109. Löffler, G., P.E. Petrides, L. Weiss, H.A. Harper: Physiologische Chemie (Springer Verlag; 1979) 186-189

110. Rannels, S.R., D.E. Rannels, A.E. Pegg, L.S. Jefferson: Glucocorticoid effects on peptide-chain initiation in skeletal muscle and heart. Am. J. Physiol., Vol. 235 (1978), E134-E139

111. Exton, J.H., L.E. Mallette, L.S. Jefferson, E.H.A. Wong, N. Friedmann, T.B. Miller Jr., C.R. Park: The hormonal control of hepatic gluconeogenesis. Recent Prog. Horm. Res., (1970), 411-457

112. Pardridge, W.M., M.B. Davidson: Alaninmetabolism in skeletal muscle in tissue culture. Biochim. Biophys. Acta, Vol. 585 (1979), 34-42

113. Brooks, G.A., K.E. Brauner, R.G. Cassens: Glycogen synthesis and metabolism of lactic acid after exercise. Am. J. Physiol., Vol. 224 (1973), 1162-1166

114. Odessey, R., E.A. Khairallah, A.L. Goldberg: Origin and possible significance of alanine production by skeletal muscle. J. Biol. Chem., Vol. 249 (1974) 7623-7629

115. Bullock, G.R., E.E. Carter, P. Elliott, R.F. Peters, P. Simpson, A.M. White: Relative changes in the function of muscle ribosomes and mitochondria during the early phase of steroid-induced catabolism. Biochem. J., Vol. 127 (1972), 881-892

116. Millward, D.J., D.O. Nnanyelugo, W.P.T. James, P.J. Garlick: Protein metabolism in skeletal muscle, the effect of feeding and fasting on muscle RNA, free amino acids and plasma insulin concentrations. Br. J. Nutr., Vol. 32 (1974), 127

117. Landau, B.R.: Adrenal steroids and carbohydrat metabolism. Vitamins and hormones 23 : 2, (1965), 1-59

118. Jefferson, L.S., J.B. Li, S.R. Rannels: Regulation by insulin of amino acid release and protein turnover in the perfused rat hemicorpus. J. Biol. Chem., Vol. 252 (1977), 1476-1483

119. Schadewaldt, P.: Glucocorticoidwirkung auf den Kohlenhydrat- und Aminosäurenstoffwechsel des Skelettmuskels. Inaugural-Dissertation, Universität Düsseldorf, (1980)

120. Keul, J., E. Doll, D. Keppler: Zum Stoffwechsel des Skelettmuskels; Glucose, Lactat, Pyruvat und freie Fettsäuren im arteriellen und venösen Blut der arbeitenden Muskulatur bei Hochleistungssportlern. Plügers Archiv, Vol. 301 (1968), 198-213

121. Randle, P.J.: The mechanism of action of insulin: effects of insulin on muscle tissue. Handbuch des Diabetes 1, (1969), 477-493

122. Jefferson, L.S., D.E. Rannels, B.L. Munger, H.E. Morgan: Insulin in the regulation of protein turnover in heart and skeletal muscle. Fed. Proc., Vol. 33 (1974), 1098-1104

123. Randle, P.J., E.A. Newsholme, P.B. Garland: Regulation of glucose uptake by muscle; Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, and of alloxan-diabetes and starvation, on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. Biochem. J., Vol. 93 (1964),652-664

124. Clerbaux, T., G. Gerets, A. Frans: Oxygen contet determination using a new analyzer: the Lex-O_2-Con. J. Lab. Clin. Med., Vol. 82 (1973), 342-348

125. Werner, W., H.G. Rey, H. Wielinger: Über die Eigenschaften eines neuen Chromogens für die Blutglucosebestimmung nach der GOD/POD-Methode. Z. Analyt. Chem., Vol. 252 (1970), 244

126. Czok, R., W. Lamprecht: Pyruvat, Phosphoenolpyruvat und D-Glycerat-3-Phosphat. Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.), Weinheim: Verlag Chemie (1974), Vol. 2, 1491-1496

127. Gutmann, I., A.W. Wahlefeld: L(+)-Lactat, Bestimmung mit Lactatdehydrogenase und NAD. Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.), Weinheim: Verlag Chemie (1974), Vol. 2, 1510-1514

128. Williamson, D.H.: L-Alanin, Bestimmung mit Alanin-Dehydrogenase. Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.), Weinheim: Verlag Chemie (1974), Vol. 2, 1724-1727

129. Bernt, E., H.U. Bergmeyer: L-Glutamat, UV-Test mit Glutamat-Dehydrogenase und NAD. Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.), Weinheim: Verlag Chemie (1974), Vol. 2, 1749-1753

130. Lund, P.: L-Glutamin, Bestimmung mit Glutaminase und Glutamat-Dehydrogenase. Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.), Weinheim: Verlag Chemie (1974), Vol. 2, 1767-1769

131. Seiffter, S., S. Dayton, B. Novic, E. Muntwyler: The estimation on glycogen with the anthrone reagent. Arch. Biochem., Vol. 25 (1950), 191-200

132. Kominz, D.R., A. Hough, S. Symonds, K. Laki: The amino acid composition of actin, myosin, tropomycin, and the meromyosins. Arch. Biochem. Biophys., Vol. 50 (1954), 148-159

133. Shrago, E., H.A. Lardy, R.C. Nordlie, D.O. Foster: Metabolic and hormonal control of phosphoenolpyruvate carboxykinase and malic enzyme in rat liver. J. Biol. Chem., Vol. 238 (1963), 3188-3192

134. Chiasson, J.L., M.R. Dietz, H. Shikama, M. Wootten, J.H. Exton: Insulin regulation of skeletal muscle glykogen metabolism. Am. J. Physiol., Vol. 239 (1980), E-69-E74

135. Conlee, R.K., R.C. Hickson, W.W. Winder, J.M. Hagberg, J.O. Holloszy: Regulation of glykogen resynthesis in muscles of rats following exercise. Am. J. Physiol. (1978), R145-R150

136. Hermansen, L., O. Vaage: Lactate disappearance and glykogen synthesis in human muscle after maximal exercise. Am. J. Physiol., Vol. 233 (1977), E422-E429

137. McLane, J.A., J.O. Holloszy: Glykogen synthesis from lactat in the three types of skeletal muscle. J. Biol. Chem., Vol. 254 (1979), 6548-6553

138. Pearce, F.J., R.J. Connett: Effect of lactate and palmitate on substrate utilization of isolated rat soleus. Am. J. Physiol., Vol. 238 (1980), C149-C159

139. Omachi, A., N. Lifson: Metabolism of isotopic lactate by the isolated perfused dog gastrocnemius. Am. J. Physiol., Vol. 185 (1956), 35-40

140. Karlsson, F., F. Bonde-Petersen, J. Henriksson, H.G. Knuttgen: Effects of previous exercise with arms or legs on metabolism and performance in exhaustive exercise. J. Appl. Physiol., Vol. 38 (1975), 763-767

141. Baldwin, K.M., A.M. Hooker, R.E. Herrick: Lactate oxidative capacity in different types of muscle. Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol. 83 (1978), 151-157

142. Fell. R.D., J.A. McLane, W.W. Winder, J.O. Holloszy: Preferential resynthesis of muscle glykogen in fasting rats after exhausting exercise. Am. J. Physiol., Vol. 238 (1980), R328-R332

143. Documenta Geigy: Wissenschaftliche Tabellen, 7. Auflage

L E B E N S L A U F

23.10.1954	Geboren in Zoppot (Danzig/Polen) Eltern: Eugen Magrian Gertrud Magrian, geb. Diesing
1961-1969	Besuch der Volksschule in Zoppot
1969-1973	Besuch des Gymnasium (Liceum Ogólnokształcace w Sopocie)
01.06.1973	Abitur
1973-1974	Medizin-Studium in Danzig (Akademia Medyczna w Gdańsku)
08.1974	Einmonatiges Praktikum als Krankenschwester
12.09.1974	Ausreise in die Bundesrepublik Deutschland
11.1974-07.1975	Sprach- und Propädeutikumkurse (zuerst in Murnau, danach in St. Augustin-Hangelar)
09.1975-12.1975	Abiturkursus in Anrath
19.12.1975	Bestätigungsprüfung im Dietrich-Bonhoffer-Gymnasium in Wiehl
seit 04.1976	Medizin-Studium an der Universität Düsseldorf
25.03.1977	Ärztliche Vorprüfung in Düsseldorf
04.1980-03.1981	Praktisches Jahr an den Klinischen Anstalten der Universität Düsseldorf
seit 08.1977	Dissertation am Institut für Physiologische Chemie II, Universität Düsseldorf

Tabelle 3: Kontrollparameter der Perfusion

	Versuchsgruppen (Klassifizierung)	Reihe	n		pH (arteriell) 0'	pH (arteriell) 60'	pO2 art. (mm Hg) 0'	pO2 art. (mm Hg) 60'	ml/min. x 30 g 0'	ml/min. x 30 g 60'	T.G. (%)
I	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40'	C	7	$\bar{x}$	7,335	7,341	439,53	322,19	14,02	11,56	24,13
				S_E	0,028	0,054	27,07	49,84	3,07	2,95	1,16
				S_{EM}	0,010	0,021	10,23	18,84	1,16	1,12	0,44
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	D	7	$\bar{x}$	7,353	7,358	450,01	298,63	13,63	12,24	25,66
				S_E	0,037	0,039	35,16	48,55	2,62	2,26	1,15
				S_{EM}	0,014	0,015	13,29	18,35	0,99	0,85	0,44
II	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5'	E	9	$\bar{x}$	7,388	7,369	478,66	322,18	16,00	13,26	24,25
				S_E	0,046	0,058	40,02	68,10	1,82	2,28	0,72
				S_{EM}	0,016	0,020	13,34	22,70	0,61	0,76	0,24
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5' 3,5 h nach Betamethason	F	9	$\bar{x}$	7,404	7,392	477,69	307,61	15,02	13,54	25,29
				S_E	0,029	0,020	49,72	59,16	1,51	1,73	0,89
				S_{EM}	0,011	0,008	16,57	19,72	0,50	0,58	0,30
III	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40'	A	8	$\bar{x}$	7,325	7,307	442,18	321,33	13,03	12,13	24,78
				S_E	0,027	0,037	37,24	64,52	2,75	1,57	0,33
				S_{EM}	0,010	0,013	13,16	22,81	0,97	0,55	0,12
	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	B	8	$\bar{x}$	7,341	7,325	453,24	334,69	12,25	11,51	24,57
				S_E	0,027	0,048	30,25	75,09	2,17	1,91	1,61
				S_{EM}	0,009	0,017	10,69	26,55	0,77	0,68	0,57

Tabelle 4 : Metabolitkonzentrationen (µMol/ml) im Perfusionsmedium

	Versuchsgruppen (Klassifizierung)	Reihe	n		Glucose		Lactat		Pyruvat	
					0'	60'	0'	60'	0'	60'
I	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40'	C	7	$\bar{x}$	10,50	7,95	1,786	7,516	0,173	0,339
				S_E	0,32	0,34	0,271	0,202	0,013	0,029
				S_{EM}	0,12	0,13	0,103	0,076	0,005	0,011
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	D	7	$\bar{x}$	10,40	8,65	1,791	7,313	0,175	0,384
				S_E	0,25	0,27	0,721	0,895	0,031	0,026
				S_{EM}	0,09	0,10	0,273	0,338	0,012	0,010
II	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5'	E	9	$\bar{x}$	10,28	5,65	1,520	7,601	0,168	0,428
				S_E	0,27	0,30	0,435	0,493	0,037	0,039
				S_{EM}	0,09	0,10	0,145	0,164	0,012	0,013
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5' 3,5 h nach Betamethason	F	9	$\bar{x}$	10,69	4,74	1,500	7,542	0,156	0,420
				S_E	0,35	0,48	0,391	0,469	0,018	0,048
				S_{EM}	0,12	0,16	0,130	0,156	0,006	0,016
III	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40'	A	8	$\bar{x}$	9,88	7,48	2,275	4,250	0,181	0,733
				S_E	0,76	0,86	0,740	0,738	0,035	0,161
				S_{EM}	0,27	0,30	0,262	0,261	0,012	0,057
	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	B	8	$\bar{x}$	10,63	8,76	1,981	3,499	0,187	0,732
				S_E	0,37	0,35	0,661	0,683	0,035	0,147
				S_{EM}	0,13	0,12	0,234	0,242	0,012	0,052

Tabelle 5 : Aminosäurenkonzentrationen (µMol/ml) im Perfusionsmedium

	Versuchsgruppen (Klassifizierung)	Reihe	n		Alanin		Glutamin		Glutamat	
					0'	60'	0'	60'	0'	60'
I	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40'	C	7	$\bar{x}$	0,086	0,397	0,056	0,201	0,041	0,076
				S_E	0,030	0,071	0,019	0,019	0,009	0,009
				S_{EM}	0,011	0,027	0,007	0,007	0,003	0,003
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	D	7	$\bar{x}$	0,072	0,461	0,054	0,282	0,037	0,076
				S_E	0,041	0,045	0,019	0,015	0,018	0,020
				S_{EM}	0,015	0,017	0,007	0,006	0,007	0,008
II	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5'	E	9	$\bar{x}$	0,075	0,266	0,062	0,228	0,029	0,030
				S_E	0,019	0,018	0,010	0,019	0,006	0,006
				S_{EM}	0,006	0,006	0,003	0,006	0,002	0,002
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5' 3,5 h nach Betamethason	F	9	$\bar{x}$	0,075	0,363	0,069	0,277	0,027	0,030
				S_E	0,019	0,026	0,009	0,015	0,008	0,007
				S_{EM}	0,006	0,009	0,003	0,005	0,003	0,002
III	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40'	A	8	$\bar{x}$	0,102	0,385	0,054	0,202	0,048	0,086
				S_E	0,020	0,033	0,015	0,024	0,018	0,020
				S_{EM}	0,007	0,012	0,005	0,008	0,006	0,007
	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	B	8	$\bar{x}$	0,098	0,478	0,053	0,296	0,035	0,063
				S_E	0,026	0,058	0,020	0,033	0,010	0,009
				S_{EM}	0,009	0,020	0,007	0,012	0,003	0,003

Tabelle 6: Metabolitveränderungen kumulativ in den ersten 20 Perfusionsminuten

	Versuchsgruppen (Klassifizierung)	Reihe	n		Glucose (µMol/30g)	Lactat (µMol/30g)	Pyruvat (µMol/30g)	Alanin (µMol/30g)
I	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40'	C	7	$\bar{x}$	-59,75	-72,587	4,713	9,652
				s_E	6,84	6,646	0,480	1,036
				s_{EM}	2,59	2,512	0,181	0,392
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	D	7	$\bar{x}$	-26,51	-73,277	6,197	11,391
				s_E	1,46	8,252	0,683	0,925
				s_{EM}	0,55	3,119	0,258	0,350
II	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5'	E	9	$\bar{x}$	-114,72	-63,618	10,373	8,830
				s_E	20,02	7,314	0,885	0,313
				s_{EM}	6,67	2,438	0,295	0,104
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5' 3,5 h nach Betamethason	F	9	$\bar{x}$	-159,82	-59,619	10,064	10,601
				s_E	7,72	6,426	0,905	0,290
				s_{EM}	2,57	2,142	0,302	0,097
III	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40'	A	8	$\bar{x}$	-50,63	54,449	-58,873	10,387
				s_E	14,44	5,691	3,503	1,127
				s_{EM}	5,11	2,012	1,239	0,398
	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	B	8	$\bar{x}$	-34,06	40,989	-52,920	12,320
				s_E	11,76	5,217	4,126	0,713
				s_{EM}	4,16	1,844	1,459	0,252

Tabelle 7 : Metabolitveränderungen kumulativ in den ersten 40 Perfusionsminuten

	Versuchsgruppen (Klassifizierung)	Reihe	n		Glucose (µMol/30g	Lactat (µMol/30g)	Pyruvat (µMol/30g)	Alanin (µMol/30g)
I	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40'	C	7	$\bar{x}$	-129,47	-154,274	10,124	18,873
				S_E	8,00	10,450	0,697	2,276
				S_{EM}	3,02	3,950	0,264	0,860
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	D	7	$\bar{x}$	-74,11	-159,867	12,815	23,409
				S_E	6,46	10,968	1,088	1,640
				S_{EM}	2,44	4,145	0,411	0,620
II	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5'	E	9	$\bar{x}$	-243,51	-116,002	19,243	13,308
				S_E	14,59	11,157	3,134	0,242
				S_{EM}	4,86	3,719	1,045	0,081
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5' 3,5 h nach Betamethason	F	9	$\bar{x}$	-330,05	-123,542	19,767	19,302
				S_E	15,19	8,787	2,625	0,506
				S_{EM}	5,06	2,929	0,875	0,169
III	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40'	A	8	$\bar{x}$	-108,81	113,184	-126,070	18,480
				S_E	18,81	8,860	7,872	1,280
				S_{EM}	6,65	3,133	2,783	0,452
	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	B	8	$\bar{x}$	-78,83	88,030	-116,253	22,365
				S_E	12,79	6,856	8,079	1,074
				S_{EM}	4,52	2,424	2,857	0,380

Tabelle 8 : Metabolitveränderungen kumulativ über die gesamte Perfusion (60 min.)

	Versuchsgruppen (Klassifizierung)	Reihe	n		Glucose (µMol/30g)	Lactat (µMol/30g)	Pyruvat (µMol/30g)	Alanin (µMol/30g)	Glutamin (µMol/30g)	Glutamat (µMol/30g)
I	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40'	C	7	$\bar{x}$	-190,68	-224,726	14,871	27,113	12,797	3,113
				S_E	15,06	15,178	1,171	2,260	0,887	0,266
				S_{EM}	5,69	5,737	0,443	0,854	0,335	0,101
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	D	7	$\bar{x}$	-123,74	-243,149	19,072	34,695	20,403	3,633
				S_E	8,49	11,327	0,461	1,546	0,765	0,332
				S_{EM}	3,21	4,281	0,174	0,584	0,289	0,125
II	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5'	E	9	$\bar{x}$	-371,56	-191,071	23,487	17,194	14,631	0,186
				S_E	19,20	19,018	3,948	0,470	1,164	0,034
				S_{EM}	6,40	6,339	1,316	0,157	0,388	0,011
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5' 3,5 h nach Betamethason	F	9	$\bar{x}$	-492,01	-195,638	24,008	25,883	18,606	0,273
				S_E	14,72	16,067	3,294	0,810	0,939	0,025
				S_{EM}	4,91	5,356	1,098	0,270	0,313	0,008
III	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40'	A	8	$\bar{x}$	-178,44	176,649	-198,387	25,269	13,071	3,463
				S_E	14,09	17,171	10,949	1,946	0,629	0,246
				S_{EM}	4,98	6,071	3,871	0,688	0,223	0,087
	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	B	8	$\bar{x}$	-124,82	130,210	-184,088	32,726	20,209	2,444
				S_E	12,89	7,071	12,516	2,132	1,074	0,250
				S_{EM}	4,56	2,500	4,425	0,754	0,380	0,089

Tabelle 9: Metabolite im Muskel (µMol/g FG) bzw. (mg/g FG) und im Muskelzellwasser (µMol/ml) bzw. in der Muskeltrockensubstanz (mg/g TG)

Versuchsgruppen (Klassifizierung)		Reihe	n		Lactat		Pyruvat		Alanin		Glykogen	
					µMol/gFG	µMol/ml	µMol/gFG	µMol/ml	µMol/gFG	µMol/ml	mg/g FG	mg/g TG
I	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40'	C	6	$\bar{x}$	3,690	3,549	0,255	0,304	2,058	3,462	3,74	15,28
				S_E	0,177	0,284	0,031	0,035	0,086	0,130	0,34	1,26
				S_{EM}	0,072	0,116	0,012	0,014	0,035	0,053	0,14	0,51
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	D	7	$\bar{x}$	3,287	2,919	0,224	0,243	2,270	3,803	4,04	15,79
				S_E	0,245	0,250	0,032	0,055	0,151	0,254	0,29	1,55
				S_{EM}	0,093	0,094	0,012	0,021	0,057	0,096	0,11	0,59
II	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5'	E	9	$\bar{x}$	3,840	3,776	0,258	0,285	2,382	4,075	4,89	20,16
				S_E	0,234	0,342	0,051	0,078	0,409	0,719	0,63	2,42
				S_{EM}	0,078	0,114	0,017	0,026	0,136	0,240	0,21	0,81
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5' 3,5 h nach Betamethason	F	9	$\bar{x}$	3,743	3,630	0,305	0,371	3,028	5,171	5,71	22,67
				S_E	0,334	0,507	0,030	0,051	0,423	0,746	0,73	3,45
				S_{EM}	0,111	0,169	0,010	0,017	0,141	0,249	0,24	1,15
III	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40'	A	7	$\bar{x}$	3,277	4,124	0,268	0,202	2,122	3,571	3,63	14,61
				S_E	0,252	0,280	0,025	0,024	0,174	0,305	0,49	1,85
				S_{EM}	0,095	0,106	0,010	0,009	0,066	0,115	0,18	0,70
	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	B	7	$\bar{x}$	2,801	3,603	0,246	0,149	2,341	3,918	3,51	14,27
				S_E	0,233	0,284	0,034	0,015	0,135	0,228	0,30	1,33
				S_{EM}	0,088	0,108	0,013	0,006	0,051	0,086	0,12	0,50

Tabelle 10: Sauerstoffverbrauch durch das Muskelpräparat (uMol/min. x 30 g Muskel)

Versuchsgruppen (Klassifizierung)		Reihe	n		0' - 20'	20' - 40'	40' - 60'
I	ADX + 3 mM Lactat-Na bei 0'/20'/40'	C	4	$\bar{x}$	18,310	14,635	14,695
				S_E	2,805	1,737	1,475
				S_{EM}	1,403	0,868	0,738
	ADX + 3 mM Lactat-Na bei 0'/20'/40' 3,5 h nach Betamethason	D	4	$\bar{x}$	16,933	14,135	12,785
				S_E	2,203	2,937	0,804
				S_{EM}	1,101	1,468	0,402
II	ADX + 3 mM Lactat-Na bei 0'/20'/40' +Insulin (1mU/ml) bei -5'	E	8	$\bar{x}$	21,458	17,059	14,988
				S_E	2,403	1,704	2,738
				S_{EM}	0,849	0,602	0,968
	ADX + 3 mM Lactat-Na bei 0'/20'/40' +Insulin (1mU/ml) bei -5' 3,5 h nach Betamethason	F	8	$\bar{x}$	24,420	20,026	18,358
				S_E	1,659	2,584	1,876
				S_{EM}	0,587	0,914	0,663

Tabelle 11: Lactat / Pyruvat - Quotienten

	Versuchsgruppen (Klassifizierung)	Reihe	n		0 min.	20 min.	40 min.	60 min.
I	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40'	C	7	$\bar{x}$	10,3157	17,1414	20,0029	22,3100
				S_E	1,1033	1,3595	1,7554	2,1734
				S_{EM}	0,4170	0,5139	0,6635	0,8215
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	D	7	$\bar{x}$	10,2029	16,0443	18,0000	19,0571
				S_E	2,9649	2,6546	2,0806	2,1656
				S_{EM}	1,1206	1,0033	0,7864	0,8185
II	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5'	E	9	$\bar{x}$	9,2344	13,1133	15,3667	17,8956
				S_E	2,2191	1,3947	1,5015	1,8794
				S_{EM}	0,7397	0,4649	0,5005	0,6265
	ADX + 3 mM Lactat - Na bei 0' / 20' / 40' +Insulin (1mU/ml) bei -5' 3,5 h nach Betamethason	F	9	$\bar{x}$	9,7622	14,0500	15,4644	18,1867
				S_E	3,1548	2,1347	1,9021	2,3943
				S_{EM}	1,0516	0,7116	0,6340	0,7981
III	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40'	A	8	$\bar{x}$	12,4850	5,7238	5,2188	5,8525
				S_E	2,6959	0,6321	0,4114	0,4792
				S_{EM}	0,9531	0,2235	0,1455	0,1694
	ADX + 1 mM Pyruvat - Na bei 0' / 20' / 40' 3,5 h nach Betamethason	B	8	$\bar{x}$	10,4100	4,6350	4,3350	4,8338
				S_E	1,8190	0,8682	0,5629	0,6638
				S_{EM}	0,6431	0,3069	0,1990	0,2347